

514 Rec'd PCT/PTO 09/462993
18 JAN 2000IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Application No. :

U.S. National Serial No. :

Filed :

PCT International Application No. : PCT/FR98/01576

VERIFICATION OF A TRANSLATION

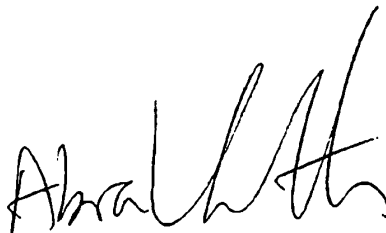
I, the below named translator, hereby declare that:

My name and post office address are as stated below;

That I am knowledgeable in the French language in which the below identified international application was filed, and that, to the best of my knowledge and belief, the English translation of the International Preliminary Examination Report of the international application No. PCT/FR98/01576 is a true and complete translation of the International Preliminary Examination Report of the above identified international application as filed.

I hereby declare that all the statements made herein of my own knowledge are true and that all statements made on information and belief are believed to be true; and further that these statements were made with the knowledge that willful false statements and the like so made are punishable by fine or imprisonment, or both, under Section 1001 of Title 18 of the United States Code and that such willful false statements may jeopardize the validity of the patent application issued thereon.

Date: 7 January 2000



Full name of the translator :

Abraham SMITH

For and on behalf of RWS Group plc

Post Office Address :

Europa House, Marsham Way,
Gerrards Cross, Buckinghamshire,
England.

EXPOSED 100
0005 MAR 81 079109659412

THIS PAGE BLANK (USPT)

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Application No. :

U.S. National Serial No. :

Filed :

PCT International Application No. : PCT/FR98/01576

VERIFICATION OF A TRANSLATION


I, the below named translator, hereby declare that:

My name and post office address are as stated below;

That I am knowledgeable in the French language in which the below identified international application was filed, and that, to the best of my knowledge and belief, the English translation of the international application No. PCT/FR98/01576 is a true and complete translation of the above identified international application as filed.

I hereby declare that all the statements made herein of my own knowledge are true and that all statements made on information and belief are believed to be true; and further that these statements were made with the knowledge that willful false statements and the like so made are punishable by fine or imprisonment, or both, under Section 1001 of Title 18 of the United States Code and that such willful false statements may jeopardize the validity of the patent application issued thereon. ✓

Date: 23 December 1999



Full name of the translator : Abraham SMITH DipIng, DipDoc,
For and on behalf of RWS Group plc

Post Office Address : Europa House, Marsham Way,
Gerrards Cross, Buckinghamshire,
England.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT



(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or Agent's file reference 339219/17059	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/FR98/01576	International filing date (day/month/year) 17/07/1998	Priority date (day/month/year) 18/07/1997
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C07K14/025		
Applicant TRANSGENE S.A. et al.		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of 5 sheets including this title page.
- ☒ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e. sheets of the description, claims and/or drawings amended during international preliminary examination and/or containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Instruction 607 of PCT Administrative Instructions).
- These annexes consist of a total of 3 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement according to Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☒ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 15/02/1999	Date of completion of this report 19.10.99
Name and mailing address of the IPEA/  European Patent Office D-80298 Munich Tel. + 49-89 2399 - 0, Tx: 523656 epmu d Fax: + 49-89 2399 - 4465	Authorized officer: Kaas, V  Telephone No. +49 89 2399 8704 W22454, 12.11.1999

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No. PCT/FR98/01576

I. Basis of the report

1. This report has been drawn up on the basis of the following elements *(the replacement sheets received by the receiving office in response to an invitation according to Article 14 are considered in the present report as "originally filed" and are not annexed to the report as they contain no amendments.)*:

Description, pages:

1-39 as originally filed

Claims, No.:

1-20 received on 08/11/1999 with the letter of 08/11/1999

Drawings, sheets:

1/5-5/5 as originally filed

1-11 as originally filed (sequence listing)

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages:
☐ the claims, Nos.:
☐ the drawings, sheets:

3. ☐ The present report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated as follows (Rule 70.2(c)):

4. Additional observations, if necessary:

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No. PCT/FR98/01576

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**1. Statement**

Novelty	Yes:	Claims	2-14, 20
	No:	Claims	1, 15-19
Inventive Step	Yes:	Claims	
	No:	Claims	1-20
Industrial Applicability	Yes:	Claims	1-20
	No:	Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

VII. Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

see separate sheet

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT - SEPARATE SHEET**

International application No. PCT/FR98/01576

1) The present application relates to an antitumoral composition comprising at least one recombinant vector comprising sequences encoding one or more immunogenic polypeptide(s) having naturally a nonmembrane location, this or these polypeptide(s) being modified by insertion of a membrane anchoring sequence so as to have a membrane location in the cells in which they are expressed. The application also relates to the vector per se, a viral particle comprising it and an antitumoral composition comprising the modified polypeptide(s). Finally, the application relates to the use of the said composition for the preparation of a medicament intended for the treatment or for the prevention of cancer of the cervix, of low-grade cervical dysplasia or of a papillomavirus infection.

2) The document WO-A-94/21680 describes vectors comprising sequences encoding an immunogenic polypeptide fused with an endoplasmic reticulum signal sequence (ER signal sequence) and their use in compositions for the treatment of cancers and of viral infections (cf. page 4, line 8 - page 5, line 15; page 9, line 24 - page 12, line 7; page 16, line 4 - page 19, line 4). It is described that the polypeptide can have a size of between about 5 and about 1000 amino acids and may, for example, be derived from the early region of a virus (cf. page 7, lines 16-30). The ER signal comes into play to allow the anchoring of the chimeric polypeptides in the membrane of the endoplasmic reticulum (cf. page 6, line 31 - page 7, line 15) so that they can then be presented at the surface of the cells by the MHC class I molecules (cf. page 3, lines 2-7). This disclosure corresponds exactly to the approach presented in the context of the present invention by the applicant on page 6, lines 8 to 23.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT - SEPARATE SHEET**

International application No. PCT/FR98/01576

The document WO-A-94/21680 therefore deprives the subject matter of claims 1 and 15 to 19 of novelty.

3) As indicated by the applicant on page 7, lines 6 to 28, the choice of the localization signal is vast and is not limited to localization signals targeting a membrane of a particular cellular compartment. Likewise, the document WO-A-94/21680 describes that it is possible to replace the ER sequence with any other known signal sequence. Furthermore, the adaptation of the antitumoral composition described in this document to a use intended for the treatment or prevention of a papillomavirus tumor or infection does not appear to go beyond the normal competence of persons skilled in the art given that, as the applicant recognizes on pages 2 and 3, the early and late genes of a number of papillomaviruses had already been identified and cloned before the claimed priority date. Persons skilled in the art therefore only had to use as adenovirus polypeptide in the composition of said document a papillomavirus polypeptide which they had available. Consequently, the subject matter of claims 3 to 10 and 20 does not therefore involve an inventive step (Article 33(3) PCT).

4) The subject matter of claim 2 represents an obvious choice which would have presented itself to persons skilled in the art knowing WO-A-94/21680 and the characteristics of claims 11 to 14 are purely conventional. These claims do not therefore satisfy the criterion set out in Article 33(3) PCT) either.

5) Claims 1 to 20 are susceptible of industrial application as defined by Article 33(3) PCT.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT - SEPARATE SHEET**

Int national application No. PCT/FR98/01576

6) The present report was established by assuming that all the claims benefit from the claimed priority date. Thus, the document "WO-A-96/39178" was not considered to form part of the state of the art as defined by the implementing regulation (Rule 64(1)-(3) PCT).

7) Contrary to what is required by Rule 5.1 a) ii) PCT, the description does not indicate the relevant state of the art disclosed in the document WO-A-94/21680 and does not cite this document.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

09/462993

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

(article 18 et règles 43 et 44 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire 339219/17059	POUR SUITE voir la notification de transmission du rapport de recherche internationale (formulaire PCT/ISA/220) et, le cas échéant, le point 5 ci-après A DONNER	
Demande internationale n° PCT/FR 98/ 01576	Date du dépôt international(jour/mois/année) 17/07/1998	(Date de priorité (la plus ancienne) (jour/mois/année) 18/07/1997
Déposant TRANSGENE S.A. et al.		

Le présent rapport de recherche internationale, établi par l'administration chargée de la recherche internationale, est transmis au déposant conformément à l'article 18. Une copie en est transmise au Bureau international.

Ce rapport de recherche internationale comprend 3 feuilles.

☒ Il est aussi accompagné d'une copie de chaque document relatif à l'état de la technique qui y est cité.

1. ☐ Il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (voir le cadre I).

2. ☐ Il y a absence d'unité de l'invention (voir le cadre II).

3. ☒ La demande internationale contient la divulgation d'un **listage de séquence de nucléotides ou d'acides aminés** et la recherche internationale a été effectuée sur la base du listage de séquence

☒ déposé avec la demande internationale

☐ fourni par le déposant séparément de la demande internationale

☐ sans être accompagnée d'une déclaration selon laquelle il n'inclut pas d'éléments allant au-delà de la divulgation faite dans la demande internationale telle qu'elle a été déposée.

☐ transcrit par l'administration

4. En ce qui concerne le titre, ☒ le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant.

☐ Le texte a été établi par l'administration et a la teneur suivante:

5. En ce qui concerne l'abrégé,

☒ le texte est approuvé tel qu'il a été remis par le déposant

☐ le texte (reproduit dans le cadre III) a été établi par l'administration conformément à la règle 38.2b). Le déposant peut présenter des observations à l'administration dans un délai d'un mois à compter de la date d'expédition du présent rapport de recherche internationale.

6. La figure des dessins à publier avec l'abrégé est la suivante:

Figure n° ☐ suggérée par le déposant.

☐ parce que le déposant n'a pas suggéré de figure.

☐ parce que cette figure caractérise mieux l'invention.

☒ Aucune des figures n'est à publier.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

09/462993

PCT

REQUETE

Le soussigné requiert que la présente demande internationale soit traitée conformément au Traité de coopération en matière de brevets.

Réservé à l'office récepteur

Demande internationale n°

Date du dépôt international

Nom de l'office récepteur et "Demande internationale PCT"

Référence du dossier du déposant ou du mandataire (facultatif)
(12 caractères au maximum) 339219/17059

Cadre n° I TITRE DE L'INVENTION COMPOSITION ANTITUMORALE A BASE DE POLYPEPTIDE IMMUNOGENE DE LOCALISATION CELLULAIRE MODIFIEE

Cadre n° II DEPOSANT

Nom et adresse : (Nom de famille suivi du prénom; pour une personne morale, désignation officielle complète. L'adresse doit comprendre le code postal et le nom du pays. Le pays de l'adresse indiquée dans ce cadre est l'Etat où le déposant a son domicile si aucun domicile n'est indiqué ci-dessous.)

TRANSGENE S.A.
11 Rue de Molsheim
67000 STRASBOURG
FRANCE

☐ Cette personne est aussi inventeur.

n° de téléphone

n° de télécopieur

n° de téléimprimeur

Nationalité (nom de l'Etat) :

FR

Domicile (nom de l'Etat) :

FR

Cette personne est
déposant pour :

☐tous les Etats
désignés☒tous les Etats désignés sauf
les Etats-Unis d'Amérique☐les Etats-Unis d'Amérique
seulement☐les Etats indiqués dans
le cadre supplémentaire

Cadre n° III AUTRE(S) DEPOSANT(S) OU (AUTRE(S)) INVENTEUR(S)

Nom et adresse : (Nom de famille suivi du prénom; pour une personne morale, désignation officielle complète. L'adresse doit comprendre le code postal et le nom du pays. Le pays de l'adresse indiquée dans ce cadre est l'Etat où le déposant a son domicile si aucun domicile n'est indiqué ci-dessous.)

KIENY Marie-Paule
6 Allée des Platanes
67100 STRASBOURG
FRANCE

Cette personne est :

☐ déposant seulement

☒ déposant et inventeur

☐ inventeur seulement
(Si cette case est cochée,
ne pas remplir la suite.)

Nationalité (nom de l'Etat) :

FR

Domicile (nom de l'Etat) :

FR

Cette personne est
déposant pour :

☐tous les Etats
désignés☐tous les Etats désignés sauf
les Etats-Unis d'Amérique☒les Etats-Unis d'Amérique
seulement☐les Etats indiqués dans
le cadre supplémentaire☒

D'autres déposants ou inventeurs sont indiqués sur une feuille annexe.

Cadre n° IV MANDATAIRE OU REPRESENTANT COMMUN; OU ADRESSE POUR LA CORRESPONDANCE

La personne dont l'identité est donnée ci-dessous est/a été désignée pour agir au nom du ou des déposants auprès des autorités internationales compétentes, comme:

☒

mandataire

☐

représentant commun

Nom et adresse : (Nom de famille suivi du prénom; pour une personne morale, désignation officielle complète. L'adresse doit comprendre le code postal et le nom du pays.)

MARTIN Jean-Jacques, SCHRIMPF Robert, AHNER Francis
WARCOIN Jacques, TEXIER Christian, LE FORESTIER Eric
CABINET REGIMBEAU
26 Avenue Kléber
75116 PARIS
FRANCE

n° de téléphone

01 45 00 92 02

n° de télécopieur

01 45 00 46 12

n° de téléimprimeur

☐

Adresse pour la correspondance : cocher cette case lorsque aucun mandataire ni représentant commun n'est/n'a été désigné et que l'espace ci-dessus est utilisé pour indiquer une adresse spéciale à laquelle la correspondance doit être envoyée.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Suite du cadre n° III AUTRE(S) DEPOSANT(S) OU (AUTRE(S)) INVENTEUR(S)	
<i>Si aucun des sous-cadres suivants n'est utilisé, cette feuille ne doit pas être incluse dans la requête.</i>	
<p><i>Nom et adresse : (Nom de famille suivi du prénom; pour une personne morale, désignation officielle complète. L'adresse doit comprendre le code postal et le nom du pays. Le pays de l'adresse indiquée dans ce cadre est l'Etat où le déposant a son domicile si aucun domicile n'est indiqué ci-dessous.)</i></p> <p>BALLOUL Jean-Marc 12 Rue des Alouettes 67380 LINGOLSHEIM FRANCE</p>	<p>Cette personne est :</p> <p><input type="checkbox"/> déposant seulement</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> déposant et inventeur</p> <p><input type="checkbox"/> inventeur seulement <i>(Si cette case est cochée, ne pas remplir la suite.)</i></p>
Nationalité (nom de l'Etat) : FR	Domicile (nom de l'Etat) : FR
Cette personne est déposant pour : <input type="checkbox"/> tous les Etats désignés <input type="checkbox"/> tous les Etats désignés sauf les Etats-Unis d'Amérique <input checked="" type="checkbox"/> les Etats-Unis d'Amérique seulement <input type="checkbox"/> les Etats indiqués dans le cadre supplémentaire	
<p><i>Nom et adresse : (Nom de famille suivi du prénom; pour une personne morale, désignation officielle complète. L'adresse doit comprendre le code postal et le nom du pays. Le pays de l'adresse indiquée dans ce cadre est l'Etat où le déposant a son domicile si aucun domicile n'est indiqué ci-dessous.)</i></p> <p>BIZOUARNE Nadine 5 Rue de Mutzig 67300 SCHILTIGHEIM FRANCE</p>	<p>Cette personne est :</p> <p><input type="checkbox"/> déposant seulement</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> déposant et inventeur</p> <p><input type="checkbox"/> inventeur seulement <i>(Si cette case est cochée, ne pas remplir la suite.)</i></p>
Nationalité (nom de l'Etat) : FR	Domicile (nom de l'Etat) : FR
Cette personne est déposant pour : <input type="checkbox"/> tous les Etats désignés <input type="checkbox"/> tous les Etats désignés sauf les Etats-Unis d'Amérique <input checked="" type="checkbox"/> les Etats-Unis d'Amérique seulement <input type="checkbox"/> les Etats indiqués dans le cadre supplémentaire	
<p><i>Nom et adresse : (Nom de famille suivi du prénom; pour une personne morale, désignation officielle complète. L'adresse doit comprendre le code postal et le nom du pays. Le pays de l'adresse indiquée dans ce cadre est l'Etat où le déposant a son domicile si aucun domicile n'est indiqué ci-dessous.)</i></p>	<p>Cette personne est :</p> <p><input type="checkbox"/> déposant seulement</p> <p><input type="checkbox"/> déposant et inventeur</p> <p><input type="checkbox"/> inventeur seulement <i>(Si cette case est cochée, ne pas remplir la suite.)</i></p>
Nationalité (nom de l'Etat) :	Domicile (nom de l'Etat) :
Cette personne est déposant pour : <input type="checkbox"/> tous les Etats désignés <input type="checkbox"/> tous les Etats désignés sauf les Etats-Unis d'Amérique <input type="checkbox"/> les Etats-Unis d'Amérique seulement <input type="checkbox"/> les Etats indiqués dans le cadre supplémentaire	
<p><i>Nom et adresse : (Nom de famille suivi du prénom; pour une personne morale, désignation officielle complète. L'adresse doit comprendre le code postal et le nom du pays. Le pays de l'adresse indiquée dans ce cadre est l'Etat où le déposant a son domicile si aucun domicile n'est indiqué ci-dessous.)</i></p>	<p>Cette personne est :</p> <p><input type="checkbox"/> déposant seulement</p> <p><input type="checkbox"/> déposant et inventeur</p> <p><input type="checkbox"/> inventeur seulement <i>(Si cette case est cochée, ne pas remplir la suite.)</i></p>
Nationalité (nom de l'Etat) :	Domicile (nom de l'Etat) :
Cette personne est déposant pour : <input type="checkbox"/> tous les Etats désignés <input type="checkbox"/> tous les Etats désignés sauf les Etats-Unis d'Amérique <input type="checkbox"/> les Etats-Unis d'Amérique seulement <input type="checkbox"/> les Etats indiqués dans le cadre supplémentaire	
<input type="checkbox"/> D'autres déposants ou inventeurs sont indiqués sur une autre feuille annexe.	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Cadre n° V DESIGNATION D'ETATS

Les désignations suivantes sont faites conformément à la règle 4.9.a) (cocher les cases appropriées: une au moins doit l'être):

Brevet régional

- ☒ AP Brevet ARIPO : GH Ghana, GM Gambie, KE Kenya, LS Lesotho, MW Malawi, SD Soudan, SZ Swaziland, UG Ouganda, ZW Zimbabwe et tout autre Etat qui est un Etat contractant du Protocole de Harare et du PCT
- ☒ EA Brevet eurasién : AM Arménie, AZ Azerbaïdjan, BY Bélarus, KG Kirghizistan, KZ Kazakhstan, MD République de Moldova, RU Fédération de Russie, TJ Tadjikistan, TM Turkménistan et tout autre Etat qui est un Etat contractant de la Convention sur le brevet eurasién et du PCT
- ☒ EP Brevet européen : AT Autriche, BE Belgique, CH et LI Suisse et Liechtenstein, CY Chypre, DE Allemagne, DK Danemark, ES Espagne, FI Finlande, FR France, GB Royaume-Uni, GR Grèce, IE Irlande, IT Italie, LU Luxembourg, MC Monaco, NL Pays-Bas, PT Portugal, SE Suède et tout autre Etat qui est un Etat contractant de la Convention sur le brevet européen et du PCT
- ☒ OA Brevet OAPI : BF Burkina Faso, BJ Bénin, CF République centrafricaine, CG Congo, CI Côte d'Ivoire, CM Cameroun, GA Gabon, GN Guinée, ML Mali, MR Mauritanie, NE Niger, SN Sénégal, TD Tchad, TG Togo et tout autre Etat qui est un Etat membre de l'OAPI et un Etat contractant du PCT (si une autre forme de protection ou de traitement est souhaitée, le préciser sur la ligne pointillée)

Brevet national (si une autre forme de protection ou de traitement est souhaitée, le préciser sur la ligne pointillée):

- | | |
|---|--|
| <input checked="" type="checkbox"/> AL Albanie | <input checked="" type="checkbox"/> LS Lesotho |
| <input checked="" type="checkbox"/> AM Arménie | <input checked="" type="checkbox"/> LT Lituanie |
| <input checked="" type="checkbox"/> AT Autriche | <input checked="" type="checkbox"/> LU Luxembourg |
| <input checked="" type="checkbox"/> AU Australie | <input checked="" type="checkbox"/> LV Lettonie |
| <input checked="" type="checkbox"/> AZ Azerbaïdjan | <input checked="" type="checkbox"/> MD République de Moldova |
| <input checked="" type="checkbox"/> BA Bosnie-Herzégovine | <input checked="" type="checkbox"/> MG Madagascar |
| <input checked="" type="checkbox"/> BB Barbade | <input checked="" type="checkbox"/> MK Ex-République yougoslave de Macédoine |
| <input checked="" type="checkbox"/> BG Bulgarie | <input checked="" type="checkbox"/> MN Mongolie |
| <input checked="" type="checkbox"/> BR Brésil | <input checked="" type="checkbox"/> MW Malawi |
| <input checked="" type="checkbox"/> BY Bélarus | <input checked="" type="checkbox"/> MX Mexique |
| <input checked="" type="checkbox"/> CA Canada | <input checked="" type="checkbox"/> NO Norvège |
| <input checked="" type="checkbox"/> CH et LI Suisse et Liechtenstein | <input checked="" type="checkbox"/> NZ Nouvelle-Zélande |
| <input checked="" type="checkbox"/> CN Chine | <input checked="" type="checkbox"/> PL Pologne |
| <input checked="" type="checkbox"/> CU Cuba | <input checked="" type="checkbox"/> PT Portugal |
| <input checked="" type="checkbox"/> CZ République tchèque | <input checked="" type="checkbox"/> RO Roumanie |
| <input checked="" type="checkbox"/> DE Allemagne | <input checked="" type="checkbox"/> RU Fédération de Russie |
| <input checked="" type="checkbox"/> DK Danemark | <input checked="" type="checkbox"/> SD Soudan |
| <input checked="" type="checkbox"/> EE Estonie | <input checked="" type="checkbox"/> SE Suède |
| <input checked="" type="checkbox"/> ES Espagne | <input checked="" type="checkbox"/> SG Singapour |
| <input checked="" type="checkbox"/> FI Finlande | <input checked="" type="checkbox"/> SI Slovénie |
| <input checked="" type="checkbox"/> GB Royaume-Uni | <input checked="" type="checkbox"/> SK Slovaquie |
| <input checked="" type="checkbox"/> GE Géorgie | <input checked="" type="checkbox"/> SL Sierra Leone |
| <input checked="" type="checkbox"/> GH Ghana | <input checked="" type="checkbox"/> TJ Tadjikistan |
| <input checked="" type="checkbox"/> GM Gambie | <input checked="" type="checkbox"/> TM Turkménistan |
| <input checked="" type="checkbox"/> GW Guinée-Bissau | <input checked="" type="checkbox"/> TR Turquie |
| <input checked="" type="checkbox"/> HR Croatie | <input checked="" type="checkbox"/> TT Trinité-et-Tobago |
| <input checked="" type="checkbox"/> HU Hongrie | <input checked="" type="checkbox"/> UA Ukraine |
| <input checked="" type="checkbox"/> ID Indonésie | <input checked="" type="checkbox"/> UG Ouganda |
| <input checked="" type="checkbox"/> IL Israël | <input checked="" type="checkbox"/> US Etats-Unis d'Amérique |
| <input checked="" type="checkbox"/> IS Islande | <input checked="" type="checkbox"/> UZ Ouzbékistan |
| <input checked="" type="checkbox"/> JP Japon | <input checked="" type="checkbox"/> VN Viet Nam |
| <input checked="" type="checkbox"/> KE Kenya | <input checked="" type="checkbox"/> YU Yougoslavie |
| <input checked="" type="checkbox"/> KG Kirghizistan | <input checked="" type="checkbox"/> ZW Zimbabwe |
| <input checked="" type="checkbox"/> KP République populaire démocratique de Corée | |
| <input checked="" type="checkbox"/> KR République de Corée | |
| <input checked="" type="checkbox"/> KZ Kazakhstan | |
| <input checked="" type="checkbox"/> LC Sainte-Lucie | |
| <input checked="" type="checkbox"/> LK Sri Lanka | |
| <input checked="" type="checkbox"/> LR Libéria | |

Cases réservées pour la désignation (aux fins d'un brevet national) d'Etats qui sont devenus parties au PCT après la publication de la présente feuille :

- ☐
- ☐

Déclaration concernant les désignations de précaution : outre les désignations faites ci-dessus, le déposant fait aussi conformément à la règle 4.9.b) toutes les désignations qui seraient autorisées en vertu du PCT, à l'exception de toute désignation indiquée dans le cadre supplémentaire comme étant exclue de la portée de cette déclaration. Le déposant déclare que ces désignations additionnelles sont faites sous réserve de confirmation et que toute désignation qui n'est pas confirmée avant l'expiration d'un délai de 15 mois à compter de la date de priorité doit être considérée comme retirée par le déposant à l'expiration de ce délai. (Pour confirmer une désignation, il faut déposer une déclaration contenant la désignation en question et payer les taxes de désignation et de confirmation. La confirmation doit parvenir à l'office récepteur dans le délai de 15 mois.)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Cadre n° VI REVENDEICATION DE PRIORITE		<input type="checkbox"/> D'autres revendications de priorité sont indiquées dans le cadre supplémentaire.		
Date de dépôt de la demande antérieure (jour/mois/année)	Numéro de la demande antérieure	Lorsque la demande antérieure est une :		
		demande nationale : pays	demande régionale : office régional	demande internationale : office récepteur
(1) 18 JUILLET 1997 (18/07/97)	97 09152	FRANCE		
(2)				
(3)				

☒ L'office récepteur est prié de préparer et de transmettre au Bureau international une copie certifiée conforme de la ou des demandes antérieures (seulement si la demande antérieure a été déposée auprès de l'office qui, aux fins de la présente demande internationale, est l'office récepteur) indiquées ci-dessus au(x) point(s) : **VI**

* Si la demande antérieure est une demande ARIPO, il est obligatoire d'indiquer dans le cadre supplémentaire au moins un pays partie à la Convention de Paris pour la protection de la propriété industrielle pour lequel cette demande antérieure a été déposée (règle 4.10.biii). Voir le cadre supplémentaire.

Cadre n° VII ADMINISTRATION CHARGÉE DE LA RECHERCHE INTERNATIONALE		
Choix de l'administration chargée de la recherche internationale (ISA) (si plusieurs administrations chargées de la recherche internationale sont compétentes pour procéder à la recherche internationale, indiquer l'administration choisie; le code à deux lettres peut être utilisé) : ISA / EP	Demande d'utilisation des résultats d'une recherche antérieure; mention de cette recherche (si une recherche antérieure a été effectuée par l'administration chargée de la recherche internationale ou demandée à cette dernière) : Date (jour/mois/année) Numéro Pays (ou office régional) 24 AVRIL 1998 FA 547177 OEB	

Cadre n° VIII BORDEREAU; LANGUE DE DEPOT	
La présente demande internationale contient le nombre de feuilles suivant : requête : 4 description (sauf partie réservée au listage des séquences) : 39 revendications : 9 abrégé : 1 dessins : 5 partie de la description réservée au listage des séquences : 12 Nombre total de feuilles : 70	Le ou les éléments cochés ci-après sont joints à la présente demande internationale : 1. <input type="checkbox"/> feuille de calcul des taxes 2. <input type="checkbox"/> pouvoir distinct signé <u>à suivre (2)</u> 3. <input type="checkbox"/> copie du pouvoir général; numéro de référence, le cas échéant : 4. <input type="checkbox"/> explication de l'absence d'une signature 5. <input checked="" type="checkbox"/> document(s) de priorité indiqué(s) dans le cadre n° VI au(x) point(s) : 6. <input type="checkbox"/> traduction de la demande internationale en (langue) : 7. <input type="checkbox"/> indications séparées concernant des micro-organismes ou autre matériel biologique déposés 8. <input type="checkbox"/> listage des séquences de nucléotides ou d'acides aminés sous forme déchiffrable par ordinateur <u>à suivre</u> 9. <input checked="" type="checkbox"/> autres éléments (préciser) : <u>Copie du rapport de Recherche</u>
Figure des dessins qui doit accompagner l'abrégé :	Langue de dépôt de la demande internationale : Française

Cadre n° IX SIGNATURE DU DEPOSANT OU DU MANDATAIRE	
<i>A côté de chaque signature, indiquer le nom du signataire et, si cela n'apparaît pas clairement à la lecture de la requête, à quel titre l'intéressé signe.</i>	
WARCOIN Jacques	 <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center; width: fit-content; margin: 0 auto;"> CABINET DE D. L. LANGE CONSEILS EN PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE 29, AVENUE DE LA LIBERTÉ 75116 PARIS 13^{ème} </div>

Réservé à l'office récepteur

1. Date effective de réception des pièces supposées constituer la demande internationale : 3. Date effective de réception, rectifiée en raison de la réception ultérieure, mais dans les délais, de documents ou de dessins complétant ce qui est supposé constituer la demande internationale : 4. Date de réception, dans les délais, des corrections demandées selon l'article 11.2) du PCT :	2. Dessins : <input type="checkbox"/> reçus : <input type="checkbox"/> non reçus :
5. Administration chargée de la recherche internationale (si plusieurs sont compétentes) : ISA /	6. <input type="checkbox"/> Transmission de la copie de recherche différée jusqu'au paiement de la taxe de recherche.

Réservé au Bureau international

Date de réception de l'exemplaire original par le Bureau international :

THIS PAGE BLANK (USPTO)

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

NOTIFICATION DE LA RECEPTION DE
L'EXEMPLAIRE ORIGINAL

(règle 24.2.a) du PCT)

w. c. d.

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

MARTIN, Jean-Jacques
Cabinet Regimbeau
26, avenue Kléber
F-75116 Paris
FRANCEARRIVE LE
21 SEP. 1998
CABINET
REGIMBEAU

Date d'expédition (jour/mois/année) 09 septembre 1998 (09.09.98)	NOTIFICATION IMPORTANTE
Référence du dossier du déposant ou du mandataire 339219/17059	Demande internationale no PCT/FR98/01576

Il est notifié au déposant que le Bureau international a reçu l'exemplaire original de la demande internationale précisée ci-après.

Nom(s) du ou des déposants et de l'Etat ou des Etats pour lesquels ils sont déposants:

TRANSGENE S.A. (pour tous les Etats désignés sauf US) —

KIENY, Marie-Paule etc. (pour US seulement) —

Date du dépôt international : 17 juillet 1998 (17.07.98) —
Date(s) de priorité revendiquée(s) : 18 juillet 1997 (18.07.97) —
Date de réception de l'exemplaire original
par le Bureau international : 07 septembre 1998 (07.09.98)
Liste des offices désignés :

— AP : GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW
— EA : AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM
— EP : AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE
— OA : BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG
— National : AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM,
— HR, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL,
— PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW

ATTENTION

Le déposant doit soigneusement vérifier les indications figurant dans la présente notification. En cas de divergence entre ces indications et celles que contient la demande internationale, il doit aviser immédiatement le Bureau international.

En outre, l'attention du déposant est appelée sur les renseignements donnés dans l'annexe en ce qui concerne

- ☒ les délais dans lesquels doit être abordée la phase nationale
☐ la confirmation des désignations faites par mesure de précaution
☒ les exigences relatives aux documents de priorité.

Une copie de la présente notification est envoyée à l'office récepteur et à l'administration chargée de la recherche internationale.

Bureau international de l'OMPI 34, chemin des Colombettes 1211 Genève 20, Suisse n° de télécopieur (41-22) 740.14.35	Fonctionnaire autorisé R. Raissi n° de téléphone (41-22) 338.83.38
---	--

THIS PAGE BLANK

**RENSEIGNEMENTS CONCERNANT LES DELAIS DANS LESQUELS DOIT ETRE ABORDEE
LA PHASE NATIONALE**

Il est rappelé au déposant qu'il doit aborder la "phase nationale" auprès de chacun des offices désignés indiqués sur la notification de la réception de l'exemplaire original (formulaire PCT/IB/301) en payant les taxes nationales et en remettant les traductions, telles qu'elles sont prescrites par les législations nationales.

Le délai d'accomplissement de ces actes de procédure est de **20 MOIS** à compter de la date de priorité ou, pour les Etats désignés qui ont été élus par le déposant dans une demande d'examen préliminaire international ou dans une élection ultérieure, de **30 MOIS** à compter de la date de priorité, à condition que cette élection ait été effectuée avant l'expiration du 19^e mois à compter de la date de priorité. Certains offices désignés (ou élus) ont fixé des délais qui expirent au-delà de 20 ou 30 mois à compter de la date de priorité. D'autres offices accordent une prolongation des délais ou un délai de grâce, dans certains cas moyennant le paiement d'une taxe supplémentaire.

En plus de ces actes de procédure, le déposant devra dans certains cas satisfaire à d'autres exigences particulières applicables dans certains offices. **Il appartient au déposant** de veiller à remplir en temps voulu les conditions requises pour l'ouverture de la phase nationale. La majorité des offices désignés n'envoient pas de rappel à l'approche de la date limite pour aborder la phase nationale.

Des informations détaillées concernant les actes de procédure à accomplir pour aborder la phase nationale auprès de chaque office désigné, les délais applicables et la possibilité d'obtenir une prolongation des délais ou un délai de grâce et toutes autres conditions applicables figurent dans le volume II du Guide du déposant du PCT. Les exigences concernant le dépôt d'une demande d'examen préliminaire international sont exposées dans le chapitre IX du volume I du Guide du déposant du PCT.

GR et ES sont devenues liées par le chapitre II du PCT le 7 septembre 1996 et le 6 septembre 1997, respectivement, et peuvent donc être élues dans une demande d'examen préliminaire international ou dans une élection ultérieure présentée le 7 septembre 1996 (ou à une date postérieure) ou le 6 septembre 1997 (ou à une date postérieure), respectivement, quelle que soit la date de dépôt de la demande internationale (voir le second paragraphe, ci-dessus).

Veuillez noter que seul un déposant qui est ressortissant d'un Etat contractant du PCT lié par le chapitre II ou qui y a son domicile peut présenter une demande d'examen préliminaire international.

CONFIRMATION DES DESIGNATIONS FAITES PAR MESURE DE PRECAUTION

Seules les désignations expresses faites dans la requête conformément à la règle 4.9.a) figurent dans la présente notification. Il est important de vérifier si ces désignations ont été faites correctement. Des erreurs dans les désignations peuvent être corrigées lorsque des désignations ont été faites par mesure de précaution en vertu de la règle 4.9.b). Toute désignation ainsi faite peut être confirmée conformément aux dispositions de la règle 4.9.c) avant l'expiration d'un délai de 15 mois à compter de la date de priorité. En l'absence de confirmation, une désignation faite par mesure de précaution sera considérée comme retirée par le déposant. Il ne sera adressé aucun rappel ni invitation. Pour confirmer une désignation, il faut déposer une déclaration précisant l'Etat désigné concerné (avec l'indication de la forme de protection ou de traitement souhaitée) et payer les taxes de désignation et de confirmation. La confirmation doit parvenir à l'office récepteur dans le délai de 15 mois.

EXIGENCES RELATIVES AUX DOCUMENTS DE PRIORITE

Pour les déposants qui n'ont pas encore satisfait aux exigences relatives aux documents de priorité, il est rappelé ce qui suit.

Lorsque la priorité d'une demande nationale, régionale ou internationale antérieure est revendiquée, le déposant doit présenter une copie de cette demande antérieure, certifiée conforme par l'administration auprès de laquelle elle a été déposée ("document de priorité"), à l'office récepteur (qui la transmettra au Bureau international) ou directement au Bureau international, avant l'expiration d'un délai de 16 mois à compter de la date de priorité, étant entendu que tout document de priorité peut être présenté au Bureau international avant la date de publication de la demande internationale, auquel cas ce document sera réputé avoir été reçu par le Bureau international le dernier jour du délai de 16 mois (règle 17.1.a)).

Lorsque le document de priorité est délivré par l'office récepteur, le déposant peut, au lieu de présenter ce document, demander à l'office récepteur de le préparer et de le transmettre au Bureau international. La requête à cet effet doit être formulée avant l'expiration du délai de 16 mois et peut être soumise au paiement d'une taxe (règle 17.1.b)).

Si le document de priorité en question n'est pas fourni au Bureau international, ou si la demande adressée à l'office récepteur de préparer et de transmettre le document de priorité n'a pas été faite (et la taxe correspondante acquittée, le cas échéant) avant l'expiration du délai applicable mentionné aux paragraphes précédents, tout Etat désigné peut ne pas tenir compte de la revendication de priorité; toutefois, aucun office désigné ne peut décider de ne pas tenir compte de la revendication de priorité avant d'avoir donné au déposant la possibilité de remettre le document de priorité dans un délai raisonnable en l'espèce.

Lorsque plusieurs priorités sont revendiquées, la date de priorité à prendre en considération aux fins du calcul du délai de 16 mois est la date du dépôt de la demande la plus ancienne dont la priorité est revendiquée.

THIS PAGE

THIS PAGE BLANK (USPTO)

02
Translation

PATENT COOPERATION TREATY

09/462993

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 339219/17059	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/FR98/01576	International filing date (<i>day/month/year</i>) 17 July 1998 (17.07.1998)	Priority date (<i>day/month/year</i>) 18 July 1997 (18.07.1997)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C07K 14/025		
Applicant TRANSGENE S.A.		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of <u>5</u> sheets, including this cover sheet.
<input checked="" type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT). These annexes consist of a total of <u>3</u> sheets.
3. This report contains indications relating to the following items:
I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report
II <input type="checkbox"/> Priority
III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention
V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited
VII <input checked="" type="checkbox"/> Certain defects in the international application
VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 15 February 1999 (15.02.1999)	Date of completion of this report 19 October 1999 (19.10.1999)
Name and mailing address of the IPEA/EP European Patent Office D-80298 Munich, Germany Facsimile No. 49-89-2399-4465	Authorized officer Telephone No. 49-89-2399-0

THIS PAGE BLANK USE

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR98/01576

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.*):

- ☐ the international application as originally filed.
- ☒ the description, pages 1-39, as originally filed,
 pages _____, filed with the demand,
 pages _____, filed with the letter of _____,
 pages _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the claims, Nos. _____, as originally filed,
 Nos. _____, as amended under Article 19,
 Nos. _____, filed with the demand,
 Nos. 1-20, filed with the letter of 08 November 1999 (08.11.1999),
 Nos. _____, filed with the letter of _____.
- ☒ the drawings, sheets/fig 1/5-5/5, as originally filed,
 sheets/fig _____, filed with the demand,
 sheets/fig 1-11, filed with the letter of Initial version (sequence listing),
 sheets/fig _____, filed with the letter of _____.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheets/fig _____

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORTInternational application No.
PCT/FR 98/01576**V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement****1. Statement**

Novelty (N)	Claims	2-14, 20	YES
	Claims	1, 15-19	NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-20	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-20	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

See separate sheet

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/FR 98/01576

VII. Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

See separate sheet

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: Separate sheet

1. The present application relates to an antitumour composition comprising at least one recombinant vector including sequences coding for one or more immunogenic polypeptides that naturally have a non-membrane localisation, said polypeptide(s) being modified by the insertion of a membrane anchor sequence so that they have membrane localisation in the cells in which they are expressed. The application also relates to the vector *per se*, a viral particle comprising same and an antitumour composition including the modified polypeptide(s). Finally, the application relates to the use of said composition for preparing a drug suitable for the treatment or prevention of cervical cancer, low-grade cervical dysplasia or papillomavirus infection.
2. Document WO-A-94/21680 describes vectors including sequences coding for an immunogenic polypeptide fused with an endoplasmic reticulum signal sequence ("ER signal sequence"), and the use thereof in compositions for treating cancers and viral infections (cf. page 4, line 8 to page 5, line 15; page 9, line 24 to page 12, line 7; page 16, line 4 to page 19, line 4). The polypeptide is described as being capable of having a size of around 5-1000 amino acids, and may, for example, be derived from an early virus region (cf. page 7, lines 16-30). The ER signal is used to enable anchoring of the chimeric polypeptides to the membrane of the endoplasmic reticulum (cf. page 6, line 31 to page

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORTInternational application No.
PCT/FR 98/01576**Supplemental Box**

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: Separate sheet

7, line 15), so that they can later be presented on the surface of the cells by class I MCH molecules (cf. page 3, lines 2-7). This disclosure exactly matches the approach presented by the applicant (cf. page 6, lines 8-23) in the context of the present invention.

Therefore, document WO-A-94/21680 deprives the subject matter of claims 1 and 15 to 19 of novelty.

3. As indicated by the applicant on page 7, lines 6-28, the selection of localisation signals is very broad and is not restricted to localisation signals that target the membrane of a particular cellular compartment. Similarly, document WO-A-94/21680 describes how the ER sequence may be replaced with any other known signal sequence. Furthermore, adapting the antitumour composition described in this document for use in the treatment or prevention of a papillomavirus infection or tumour does not appear to be beyond the normal abilities of persons skilled in the art given that, as acknowledged by the applicant on pages 2 and 3, the early and late genes of a number of papillomaviruses had already been identified and cloned before the priority date claimed. Therefore, a person skilled in the art would merely have had to use an available papillomavirus polypeptide as the adenovirus polypeptide in the composition of said document. It follows that the subject matter of claims 3 to 10 and 20 does not involve an

THIS PAGE BLANK (USP)

THIS PAGE BLANK (USP)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/FR 98/01576

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: Separate sheet

inventive step (PCT Article 33(3)).

4. The subject matter of claim 2 is an obvious selection that would have been available to a person skilled in the art aware of WO-A-94/21680, and the features of claims 11 to 14 are entirely conventional. Therefore, these claims also fail to comply with the requirements of PCT Article 33(3).
5. Claims 1 to 20 are industrially applicable (PCT Article 33(4)).
6. The present report has been drawn up on the basis of the assumption that the priority date claimed is valid for all of the claims. Therefore, document WO-A-96/39178 has not been considered to be part of the prior art as defined in the Regulations (PCT Rules 64.1 to 64.3).
7. Contrary to the requirement of PCT Rule 5.1(a)(ii), the description does not indicate the relevant prior art disclosed in document WO-A-94/21680, and does not cite this document.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

THIS PAGE BLANK

09/462993

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

REC'D 25 OCT 1999

WIPO PCT

RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

(article 36 et règle 70 du PCT)



Référence du dossier du déposant ou du mandataire 339219/17059	POUR SUITE A DONNER voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416)	
Demande internationale n° PCT/FR98/01576	Date du dépôt international (jour/mois/année) 17/07/1998	Date de priorité (jour/mois/année) 18/07/1997
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB C07K14/025		
Déposant TRANSGENE S.A. et al.		

1. Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.
2. Ce RAPPORT comprend 5 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.
 - ☒ Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).

Ces annexes comprennent 3 feuilles.

3. Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:

- I ☒ Base du rapport
- II ☐ Priorité
- III ☐ Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
- IV ☐ Absence d'unité de l'invention
- V ☒ Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
- VI ☐ Certains documents cités
- VII ☒ Irrégularités dans la demande internationale
- VIII ☐ Observations relatives à la demande internationale

Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale 15/02/1999	Date d'achèvement du présent rapport 19.10.99
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international:  Office européen des brevets D-80298 Munich Tél. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Fonctionnaire autorisé Kaas, V N° de téléphone +49 89 2399 8704 

THIS PAGE BLANK (USETM)

**RAPPORT D'EXAMEN
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR98/01576

I. Base du rapport

1. Ce rapport a été rédigé sur la base des éléments ci-après (*les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées, dans le présent rapport, comme "initialement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications.*) :

Description, pages:

1-51 version initiale

Revendications, N°:

1-20 reçue(s) le 28/09/1999 avec la lettre du 28/09/1999

Dessins, feuilles:

1/5-5/5 version initiale

2. Les modifications ont entraîné l'annulation :

- ☐ de la description, pages :
- ☐ des revendications, n°s :
- ☐ des dessins, feuilles :

3. ☐ Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

4. Observations complémentaires, le cas échéant :

THIS PAGE BLANK (US)

**RAPPORT D'EXAMEN
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR98/01576

V. Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

1. Déclaration

Nouveauté	Oui : Revendications 2-14, 20 Non : Revendications 1, 15-19
Activité inventive	Oui : Revendications Non : Revendications 1-20
Possibilité d'application industrielle	Oui : Revendications 1-20 Non : Revendications

2. Citations et explications

voir feuille séparée

VII. Irrégularités dans la demande internationale

Les irrégularités suivantes, concernant la forme ou le contenu de la demande internationale, ont été constatées :

voir feuille séparée

THIS PAGE BLANK (USPTO)

1) La présente demande concerne une composition antitumorale comprenant au moins un vecteur recombinant comprenant des séquences codant pour un ou plusieurs polypeptide(s) immunogène(s) présentant naturellement une localisation non membranaire, ce ou ces polypeptides étant modifiés par insertion d'une séquence d'ancrage membranaire de manière à présenter une localisation membranaire dans les cellules dans lesquelles ils sont exprimés. La demande concerne également le vecteur en lui-même, une particule virale le comprenant et une composition antitumorale comprenant le ou les polypeptides modifiés. Enfin, la demande concerne l'utilisation de ladite composition pour la préparation d'un médicament destiné au traitement ou à la prévention d'un cancer du col de l'utérus, d'une dysplasie du col de bas grade ou d'une infection à papillomavirus.

2) Le document WO-A-94/21680 décrit des vecteurs comprenant des séquences codant pour un polypeptide immunogène fusionné avec une séquence signal de reticulum endoplasmique ("ER signal sequence") et leur utilisation dans des compositions pour le traitement des cancers et des infections virales (cf. page 4, ligne 8- page 5, ligne 15; page 9, ligne 24- page 12, ligne 7; page 16, ligne 4- page 19, ligne 4). Il est décrit que le polypeptide peut avoir une taille comprise entre environ 5 et environ 1000 acides aminés et peut, par exemple, dériver de la région précoce d'un virus (cf. page 7, lignes 16-30). Le signal ER intervient pour permettre l'ancrage des polypeptides chimères dans la membrane du reticulum endoplasmique (cf. page 6, ligne 31- page 7, ligne 15) afin de pouvoir ensuite être présentés à la surface des cellules par les molécules de classe I du MCH (cf. page 3, lignes 2-7). Cette divulgation correspond exactement à l'approche présentée dans le cadre de la présente invention par la demanderesse à la page 6, lignes 8 à 23.

Le document WO-A-94/21680 prive donc de nouveauté l'objet des revendications 1 et 15 à 19.

3) Comme l'indique la demanderesse à la page 7, lignes 6 à 28, le choix du signal de localisation est vaste et n'est pas limité à des signaux de localisation ciblant une membrane d'un compartiment cellulaire particulier. De même, le document WO-A-94/21680 décrit qu'il est possible remplacer la séquence ER par tout autre séquence signal connue. De plus, l'adaptation de la composition antitumorale décrite dans ce document à une utilisation destinée au traitement ou à la prévention d'une infection ou

THIS PAGE BLANK (USPTO)

tumeur à papillomavirus ne semble pas dépasser les compétences normales de l'homme du métier, étant donné que, comme le reconnaît la demanderesse aux pages 2 et 3, les gènes précoces et tardifs d'un certain nombre de papillomavirus avaient déjà été identifiés et clonés avant la date de priorité revendiquée. L'homme du métier n'aurait donc eu qu'à utiliser comme polypeptide d'adénovirus dans la composition dudit document un polypeptide de papillomavirus qu'il avait à disposition. Par conséquent, L'objet des revendications 3 à 10 et 20 n'implique donc pas d'activité inventive (Article 33(3) PCT).

4) L'objet de la revendication 2 représente un choix évident qui se serait présenté à l'homme du métier connaissant WO-A-94/21680 et les caractéristiques des revendications 11 à 14 sont purement conventionnelles. Ces revendications ne satisfont donc pas non plus au critère énoncé par l'article 33(3) PCT).

5) Les revendications 1 à 20 sont susceptibles d'application industrielle telle que définie par l'article 33(3) PCT.

6) Le présent rapport a été établi en présumant que toutes les revendications bénéficient de la date de priorité revendiquée. Ainsi, le document "WO-A-96/39178" n'a pas été considéré comme faisant partie de l'état de la technique tel que défini par le règlement d'exécution (Règle 64(1)-(3) PCT).

7) Contrairement à ce qu'exige la règle 5.1 a) ii) PCT, la description n'indique pas l'état de la technique antérieure pertinent exposé dans le document WO-A-94/21680 et ne cite pas ce document.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Revendications

1. Composition antitumorale comprenant au moins un vecteur recombinant renfermant les séquences codant pour un ou plusieurs polypeptide(s) immunogène(s), caractérisée en ce que l'un au moins desdits polypeptides est un polypeptide présentant naturellement une localisation non membranaire et qui est modifié par insertion d'une séquence d'ancrage membranaire de manière à présenter une localisation membranaire dans les cellules dans lesquelles il est exprimé.
2. Composition antitumorale selon la revendication 1, caractérisée en ce que ledit polypeptide présente naturellement une localisation nucléaire et est en outre délété de sa séquence naturelle de localisation nucléaire.
3. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 et 2, caractérisée en ce que ladite séquence d'ancrage membranaire est sélectionnée parmi le groupe constitué par celle de la glycoprotéine rabique, de la glycoprotéine env du virus HIV et de la protéine F du virus de la rougeole.
4. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que ledit polypeptide immunogène est originaire d'une région précoce et/ou tardive d'un papillomavirus.
5. Composition antitumorale selon la revendication 4, caractérisée en ce que ledit polypeptide immunogène dérive d'un polypeptide de la région précoce d'un papillomavirus.
6. Composition antitumorale selon la revendication 5, caractérisée en ce que ledit polypeptide immunogène dérive d'un polypeptide E6 ou E7 d'un papillomavirus.
7. Composition antitumorale selon la revendication 6, caractérisée en ce que ledit polypeptide immunogène dérive d'un variant non oncogène dudit polypeptide E6 ou E7 d'un papillomavirus.
8. Composition antitumorale selon la revendication 4, caractérisée en ce que ledit polypeptide immunogène dérive du polypeptide L1 ou L2 d'un papillomavirus.
9. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 8, caractérisée en ce qu'au moins un polypeptide immunogène dérive d'un polypeptide précoce et au

THIS PAGE BLANK (USPTO)

moins un polypeptide immunogène dérive d'un polypeptide tardif d'un papillomavirus.

10. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 9, caractérisée en ce qu'au moins un polypeptide immunogène est tel que :
- 5 (1) ledit polypeptide immunogène a une séquence homologue ou identique à celle montrée dans la SEQ ID NO: 1,
- (2) ledit polypeptide immunogène a une séquence homologue ou identique à celle montrée dans la SEQ ID NO: 2,
- (3) ledit polypeptide immunogène a une séquence homologue ou identique à celle montrée dans la SEQ ID NO: 1 et un polypeptide immunogène ayant une
- 10 séquence homologue ou identique à celle montrée dans la SEQ ID NO: 2,
- (4) ledit polypeptide immunogène a une séquence homologue ou identique à celle montrée dans la SEQ ID NO: 1, un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou un polypeptide immunogène dérivant de la
- 15 protéine L2 d'un papillomavirus,
- (5) ledit polypeptide immunogène a une séquence homologue ou identique à celle montrée dans la SEQ ID NO: 2, un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou un polypeptide immunogène dérivant de la
- 20 protéine L2 d'un papillomavirus, ou
- (6) ledit polypeptide immunogène a une séquence homologue ou identique à celle montrée dans la SEQ ID NO: 1, un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à celle montrée dans la SEQ ID NO: 2, un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus.
- 25 11. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisée en ce que ledit vecteur recombinant comprend en outre les séquences codant pour au moins un composé améliorant l'effet antitumoral de ladite composition.
12. Composition antitumorale selon la revendication 11, caractérisée en ce que ledit composé améliorant l'effet antitumoral est un immunostimulateur.
- 30 13. Composition antitumorale selon la revendication 12, caractérisée en ce que ledit composé immunostimulateur est sélectionné parmi le groupe constitué par

THIS PAGE BLANK (USPIC)

l'interleukine-2, l'interleukine-7, l'interleukine-12 et les molécules de co-adhésion B7.1 et B7.2.

14. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 13, caractérisée en ce que ledit vecteur recombinant dérive d'un poxvirus.
- 5 15. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 14, renfermant un support acceptable d'un point de vue pharmaceutique permettant son administration par injection à l'homme ou à l'animal.
16. Vecteur recombinant comprenant les séquences codant pour un ou plusieurs polypeptide(s) immunogène(s), caractérisé en ce que l'un au moins desdits
10 polypeptides présente les caractéristiques définies aux revendications 1 à 15.
17. Particule virale comprenant un vecteur recombinant selon la revendication 16.
18. Composition antitumorale caractérisée en ce qu'elle comprend un ou plusieurs polypeptide(s) immunogène(s), caractérisée en ce que l'un au moins desdits polypeptides présente les caractéristiques définies aux revendications 1 à 10.
- 15 19. Utilisation d'une composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 15 et 18, d'un vecteur recombinant selon la revendication 16 ou d'une particule virale selon la revendication 17, pour la préparation d'un médicament destiné au traitement ou à la prévention d'un cancer ou d'une tumeur.
- 20 20. Utilisation selon la revendication 19, pour la préparation d'un médicament destiné au traitement ou à la prévention d'un cancer du col de l'utérus, d'une dysplasie du col de bas grade ou d'une infection à papillomavirus.

THIS PAGE BLANK (USP)

PCTORGANISATION MONDIALE DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE
Bureau international

DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : C07K 14/025, C12N 15/86, A61K 39/12		A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 99/03885 (43) Date de publication internationale: 28 janvier 1999 (28.01.99)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR98/01576 (22) Date de dépôt international: 17 juillet 1998 (17.07.98) (30) Données relatives à la priorité: 97/09152 18 juillet 1997 (18.07.97) FR (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): TRANSGENE S.A. [FR/FR]; 11, rue de Molsheim, F-67000 Strasbourg (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): KIENY, Marie-Paule [FR/FR]; 6, allée des Platanes, F-67100 Strasbourg (FR). BALLOUL, Jean-Marc [FR/FR]; 12, rue des Alouettes, F-67380 Lingolsheim (FR). BIZOUARNE, Nadine [FR/FR]; 5, rue de Mutzig, F-67300 Schiltigheim (FR). (74) Mandataires: MARTIN, Jean-Jacques etc.; Cabinet Regimbeau, 26, avenue Kléber, F-75116 Paris (FR).			(81) Etats désignés: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i> <i>Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues.</i>
(54) Title: ANTITUMORAL COMPOSITION BASED ON IMMUNOGENIC POLYPEPTIDE WITH MODIFIED CELL LOCATION. (54) Titre: COMPOSITION ANTITUMORALE A BASE DE POLYPEPTIDE IMMUNOGENE DE LOCALISATION CELLULAIRE MODIFIEE (57) Abstract <p>The invention concerns an antitumoral composition comprising as therapeutic agent one or several immunogenic polypeptides, of which at least one is modified so as to have a cell location different from its native location. The invention also concerns a composition based on a recombinant vector expressing said immunogenic polypeptide. It further concerns a recombinant vector comprising at least the sequences coding for an immunogenic polypeptide originating from a precocious and/or tardive region of a papillomavirus having a modified location and a viral particle comprising said vector. Finally it concerns the therapeutic use of said composition, said recombinant vector and said viral particle.</p> (57) Abrégé <p>La présente invention concerne une composition antitumorale comprenant à titre d'agent thérapeutique un ou plusieurs polypeptides immunogènes, dont l'un au moins est modifié de manière à présenter une localisation cellulaire différente de sa localisation native. Elle concerne également une composition à base de vecteur recombinant exprimant ledit polypeptide immunogène. Elle a également pour objet un vecteur recombinant comprenant au moins les séquences codant pour un polypeptide immunogène originaire d'une région précoce et/ou tardive d'un papillomavirus modifié au niveau de sa localisation ainsi qu'une particule virale comprenant ledit vecteur. Enfin, elle concerne l'utilisation thérapeutique de la composition, du vecteur recombinant et de la particule virale selon l'invention.</p>			

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brsil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

**Composition antitumorale à base de polypeptide immunogène de
localisation cellulaire modifiée**

5

La présente invention a pour objet une composition antitumorale comprenant à titre d'agent thérapeutique ou prophylactique un polypeptide immunogène modifié de manière à présenter une localisation différente de sa localisation native. Elle
10 concerne également une composition à base de vecteur recombinant exprimant ledit polypeptide. Une telle composition est plus particulièrement destinée au traitement ou la prévention des lésions associées aux papillomavirus.

Il est généralement admis que le cancer est une maladie qui résulte d'une perte du contrôle de la multiplication cellulaire. Ses causes peuvent être multiples et
15 dues notamment à un dysfonctionnement de gènes cellulaires (activation par exemple par mutation somatique de gènes potentiellement oncogènes ; dérégulation de l'expression ; inhibition de l'expression de gènes suppresseurs de tumeurs) ou à l'expression indésirable de gènes viraux.

Chez l'homme, les papillomavirus (HPV) sont associés à des pathologies
20 allant de l'infection bénigne de la peau, aux verrues et aux tumeurs malignes. Parmi les 75 types de HPV identifiés jusqu'à présent, 20 isolats distincts sont hautement spécifiques des voies génitales et 5 d'entre eux (HPV-16 et 18 et à un moindre degré les HPV-31, 33 et 45) sont clairement associés au cancer du col de l'utérus et des voies basses. Toute une série d'études démontre le rôle transformant de ces virus,
25 leur intégration spécifique dans le génome des cellules néoplasiques, leur activité génique dans les cellules cancéreuses et l'importance de l'expression de certains gènes viraux dans le maintien du phénotype malin des cellules néoplasiques HPV positives (Monsenego, J. Impact Medecin, 11 mars 1994).

D'une manière générale, les papillomavirus sont des virus à ADN possédant
30 un génome circulaire d'environ 7900 paires de bases entouré par une capside

protéique. Un certain nombre de types de papillomavirus, notamment bovins (BPV) et humains (HPV) ont été identifiés (Pfister, 1987, in *The papovaviridae : The Papillomaviruses*, édition Salzman et Howley, Plenum Press, New York, p 1-38). Leur génome comprend une région précoce contenant les cadres de lecture E1, E2, E4, E5, E6 et E7 et une région tardive codant pour les protéines de capsid L1 et L2.

Les protéines précoces ont la capacité de lier l'ADN et sont trouvées de manière prédominante dans le noyau. Les produits d'expression E1 et E2 régulent la réplication virale et l'expression des gènes viraux alors que ceux des régions E5, E6 et E7 sont impliqués dans les processus de transformation oncogénique des cellules infectées. A cet égard, il a été montré expérimentalement que la protéine E5 de BPV-1 peut *in vitro* transformer des cellules (Schlegel et al., 1986, Science 233, 464-467). Le pouvoir transformant de E7 a été démontré pour HPV-16 et HPV-18 (Kanda et al., 1988, J. Virol. 62, 610-613 ; Vousden et al., 1988, Oncogene Res. 3, 1-9 ; Bedell et al., 1987, J. Virol. 61, 3635-3640) et corrélé à sa capacité à lier le produit du gène du rétinoblastome (Rb) (Munger et al., 1989, EMBO J. 8, 4099-4105 ; Heck et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89, 4442-4446). Par ailleurs, Crook et al. (1991, Cell 67, 547-556) ont montré que l'antigène E6 de HPV-16 et 18 peut complexer le produit du gène p53, ce qui explique son rôle prédominant dans la transformation cellulaire.

Les pathologies associées aux virus HPV posent un problème thérapeutique du fait de leur nature persistante et récurrente. Même si les approches classiques demeurent la chirurgie et la chimiothérapie, l'immunothérapie est maintenant envisagée pour le traitement de ces maladies. Le candidat vaccin idéal doit, à titre préventif (immunoprophylaxie), empêcher l'infection de s'établir durablement et de se propager aux tissus voisins et, à titre curatif (immunothérapie), réduire l'évolution tumorale chez les patientes infectées. On a proposé jusqu'à présent d'utiliser les antigènes de capsid pour induire la production d'anticorps contre les épitopes localisés à la surface des particules virales et les protéines précoces pour établir l'immunité cellulaire à l'encontre des cellules infectées après intégration de l'ADN

viral.

A cet égard, le brevet européen EP 0 462 187 décrit une approche thérapeutique par administration de poxvirus exprimant les gènes précoces des papillomavirus. L'approche de vaccination décrite dans WO 93/02184 est basée sur
5 l'utilisation des antigènes de capsid à titre d'agents immunogènes et notamment de particules virales vides d'ADN (VLP pour Virus like particles) reconstituées *in vitro*. La demande française 96 09584 divulgue une composition associant l'effet préventif procuré par les polypeptides précoces et l'effet curatif conféré par les polypeptides tardifs des papillomavirus. Or, jusqu'à présent, on a mis en oeuvre les protéines
10 virales, éventuellement mutées de manière à abolir leur activité transformante, mais néanmoins natives du point de vue de leur localisation cellulaire.

La présente invention se propose d'utiliser des protéines immunogènes dont la localisation a été modifiée dans le but d'améliorer leur accessibilité au système immunitaire de l'hôte, afin d'améliorer ou stimuler une réponse immunitaire à l'égard de
15 la tumeur ou du cancer à traiter, que celle-ci soit spécifique ou non spécifique et de type humoral (production d'anticorps) ou cellulaire (réponse cytotoxique CTL).

On a maintenant modifié les antigènes nucléaires E6 et E7 de HPV-16 par introduction de séquences d'ancrage et de sécrétion appropriées afin de leur conférer une présentation transmembranaire. Le changement de localisation a un effet
20 bénéfique sur la réponse immune qui se traduit par une activité antitumorale supérieure chez les animaux traités avec un virus de la vaccine co-exprimant les antigènes E6 et E7 membranaires et l'IL-2 humaine, comparé à ceux ayant reçu un virus équivalent produisant les antigènes nucléaires. Le but de la présente invention est de mettre à la disposition du public des compositions antitumorales plus efficaces
25 que les compositions de l'art antérieur, pour inhiber au moins partiellement l'établissement ou la progression d'une tumeur ou d'un cancer. Une application particulièrement utile est le traitement des infections à HPV et plus particulièrement des pathologies graves telles que le cancer du col de l'utérus.

C'est pourquoi la présente invention a pour objet une composition
30 antitumorale comprenant à titre d'agent thérapeutique ou prophylactique un ou

plusieurs polypeptide(s) immunogène(s), l'un au moins desdits polypeptides étant modifié de manière à présenter une localisation différente de sa localisation native.

Au sens de la présente invention, le terme "polypeptide immunogène" désigne un polypeptide qui ne trouve pas son équivalent dans les cellules normales.

- 5 Un exemple préféré est constitué par un antigène tumeur-spécifique. Pour illustrer, on peut citer les antigènes cellulaires dont l'expression survient pendant la période foeto-embryonnaire et régresse à la naissance jusqu'à disparaître, les antigènes qui s'expriment normalement à un très faible niveau et qui, exprimés à fort niveau, deviennent caractéristiques d'une tumeur, les antigènes cellulaires dont la structure
- 10 ou la conformation est modifiée ou encore les antigènes non cellulaires, en particulier viraux dérivant d'un virus oncogène. Il peut s'agir par exemple des produits d'expression des gènes BRCA-1 (Miki et al., 1994, Science 226, 66-71), BRCA-2 (Wooster et al., 1995, Nature 378, 789-792), MUC-1 (Hareuveni et al., 1990, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87, 9498-9502), CEA..., dont certaines mutations ou la
- 15 surexpression sont impliquées dans le développement cancéreux. Pour ce qui est des antigènes viraux, on peut citer plus particulièrement les produits d'expression des gènes précoces ou tardifs des papillomavirus, EBNA-1 du virus Epstein Barr, les antigènes des virus HTLV (Human T Lymphocyte Virus) I et II ou des virus de l'hépatite B et C. Les antigènes spécifiques de tumeurs sont largement décrits dans
- 20 la littérature accessible à l'homme de l'art

- La caractéristique essentielle du polypeptide en usage dans la présente invention est de présenter une localisation différente de sa localisation native. Les mécanismes de transport et les signaux impliqués sont décrits dans les ouvrages de biologie cellulaire (voir par exemple Molecular Biology of the Cell, Third Ed.
- 25 Garland Publishing Inc. NY & London). Brièvement, la grande majorité des polypeptides est synthétisée sur des ribosomes libres dans le cytosol où ils exercent leur activité. Mais, certains polypeptides ont une destination cellulaire autre, généralement déterminée par la présence de signaux peptidiques appropriés et doivent être transportés jusqu'à celle-ci. Ainsi, les polypeptides destinés à être
- 30 exportés vers la membrane plasmique ou sécrétés à l'extérieur de la cellule sont

synthétisés par des ribosomes associés au réticulum endoplasmique (RE) généralement sous forme de précurseurs comportant à leur extrémité aminoterminal une séquence de sécrétion (ou peptide signal) qui initie leur passage dans le RE. Elle est ensuite éliminée par une endopeptidase spécifique pour donner le polypeptide mature. Une séquence de sécrétion comporte habituellement 15 à 35 acides aminés essentiellement hydrophobes. Il n'existe pas de séquence consensuelle et il semble que ce soit la structure secondaire qui détermine la reconnaissance par l'endopeptidase. Néanmoins, le clivage protéolytique a lieu le plus souvent après un résidu glycine, sérine ou alanine.

Les protéines membranaires comportent généralement une séquence d'ancrage de nature fortement hydrophobe qui reste insérée dans la membrane plasmique. Le polypeptide peut être transmembranaire avec l'une de ses extrémités exposée à l'extérieur de la cellule, la séquence d'ancrage traversant la membrane et l'autre extrémité du côté cytosolique. Dans la plupart des cas, la chaîne polypeptidique imbriquée dans la double couche lipidique de la membrane a une conformation en hélice α (voir par exemple Branden et Tooze, 1991, dans Introduction to Protein Structure p 202-214, NY Garland).

Quant à la localisation nucléaire, elle peut être conférée par la présence d'une courte séquence dite de localisation nucléaire (NLS) composée principalement de résidus chargés positivement, tels que lysine et arginine. On peut citer à titre d'exemples les signaux de translocation nucléaire KRKKRK et RKRRKR présents dans les polypeptides L1 et L2 de HPV (Zhou et al., 1991, Virology 185, 625-632). Cependant, certains polypeptides exerçant leur fonction au sein du noyau ne possèdent pas de séquence NLS typique. C'est le cas des antigènes E6 et E7 de papillomavirus.

Le polypeptide immunogène compris dans la composition selon l'invention peut résulter de l'introduction et/ou la délétion de signaux de localisation appropriés au sein d'un polypeptide natif, d'un fragment de celui-ci, d'une chimère comportant des séquences d'origines différentes ou d'un variant (délétion, insertion et/ou substitution d'un ou plusieurs acides aminés). De manière plus particulière, sa

séquence en acides aminés présente un degré de similarité avec tout ou partie de la séquence du polypeptide natif dont il est issu supérieur à 70 %, avantageusement, supérieur à 80 % et, de préférence, supérieur à 90 %. Le degré de similarité peut être aisément calculé à l'aide d'un programme ordinateur approprié ou en alignant les
5 séquences de manière à obtenir le degré maximal d'homologie et en comptabilisant le nombre de positions dans lesquelles les acides aminés des deux séquences se retrouvent à l'identique par rapport au nombre total de positions.

L'homme du métier connaît les signaux permettant le changement de présentation cellulaire d'un polypeptide. Dans le cas où l'on désire que le polypeptide
10 immunogène soit sécrété, l'adjonction d'une séquence de sécretion à son extrémité amino-terminale, permettra son transport via le RE vers l'extérieur de la cellule hôte. L'insertion a lieu de préférence immédiatement en aval du codon initiateur de la traduction. Dans le cadre de la présente invention, il peut être avantageux de muter/déléter tout ou partie des résidus déterminant la localisation native, pour
15 éviter les interférences. Par exemple, si le polypeptide natif a une destination membranaire, il comporte d'ores et déjà une séquence de sécretion et on procédera éventuellement à la mutation ou délétion de la séquence d'ancrage hydrophobe. En outre, l'inactivation (par mutation/délétion) des signaux natifs peut permettre une localisation cytoplasmique. La présentation cytoplasmique d'un peptide immunogène
20 présentant normalement une localisation cellulaire différente (par exemple nucléaire, membranaire, sécrétée ...) peut favoriser la présentation peptidique médiée par les antigènes de classe I du complexe majeur d'histocompatibilité et la réponse CTL *in vivo* (Tobery et Siliciano, 1997, J. Exp. Med. 5, 909-920). Un autre mode de réalisation envisageable consiste à fusionner le polypeptide immunogène avec
25 l'ubiquitine également dans le but de stimuler une réponse CTL puissante.

Avantageusement, une composition selon l'invention comprend un polypeptide immunogène modifié de manière à présenter une localisation membranaire, de préférence, par insertion d'une séquence d'ancrage membranaire et, dans le cas où le polypeptide natif en est dépourvu, d'une séquence de sécretion. Le
30 site d'insertion préféré de la séquence de sécretion est l'extrémité N-terminale,

comme indiqué précédemment, et celui de la séquence d'ancrage membranaire est l'extrémité C-terminale, par exemple immédiatement en amont du codon stop. Dans ce contexte, il peut également être avantageux de procéder à la mutation/délétion de tout ou partie des signaux de localisation natifs (par exemple séquence NLS) pour
5 ne pas interférer avec la nouvelle localisation.

Le choix du signal de localisation susceptible d'être mis en oeuvre dans le cadre de la présente invention est vaste. Il peut dériver de toute protéine en comportant d'origine eucaryote ou non (virus, parasite, champignon) du moment qu'il soit reconnu par la cellule à traiter. Il peut être naturel ou synthétique,
10 hétérologue ou homologue vis à vis de cette dernière. Il peut également comporter une ou plusieurs modifications par rapport au signal dont il dérive, sous réserve qu'elle(s) n'affecte(nt) pas sa fonction. A titre indicatif, on préférera avoir recours aux séquences de sécretion et/ou d'ancrage membranaire de la glycoprotéine rabique, de la glycoprotéine env du virus HIV ou de la protéine F du virus de la rougeole.
15 Dans le cas où la modification du polypeptide immunogène fait intervenir plusieurs signaux de localisation (par exemple séquence de sécretion et d'ancrage membranaire), ceux-ci peuvent avoir une origine commune ou différente.

Il est également possible de mettre en oeuvre des signaux de localisation ciblant un compartiment cellulaire particulier. On peut citer notamment une séquence
20 consensus d'endocytose (par exemple celle présente dans la région C-terminale des chaînes lourdes d'immunoglobuline IgG1 de séquence IPNYRNM ; Kaisho et al., 1997, Science 276, 412-414) ou une séquence permettant le ciblage dans la membrane de l'appareil de Golgi (Mochamer et Rose, 1987, J. Cell Biol. 105, 1205-1214 ; Mochamer, 1993, Curr. Opin. Cell Biol. 5, 606-612). On peut notamment
25 envisager l'emploi de séquences dérivées de la glycoprotéine E1 de Coronavirus divulguées dans la banque de données Swiss-Prot sous l'accension P11222. L'incorporation de ce type de séquence à l'extrémité C-terminale du polypeptide immunogène est préférée.

Par ailleurs, la modification de la localisation cellulaire peut être réalisée par
30 toute technique conventionnelle, notamment par mutagenèse dirigée, ligation de

signaux exogènes ou PCR.

Selon un mode de réalisation préféré, une composition antitumorale selon l'invention, est destinée à traiter ou prévenir les infections à papillomavirus et les désordres en résultant, en particulier les dysplasies du col de bas grade et le cancer
5 du col de l'utérus. Selon ce mode de réalisation, elle comprend au moins un polypeptide immunogène originaire d'une région précoce et/ou tardive d'un papillomavirus, notamment d'un virus à risque tel que HPV-16, 18, 31, 33 ou encore 45.

Conformément aux buts poursuivis par la présente invention, on peut mettre
10 en oeuvre un ou plusieurs polypeptides immunogènes de papillomavirus quels qu'ils soient. Comme rappelé précédemment, leur génome code pour 8 polypeptides, deux polypeptides tardifs L1 et L2 composant la capside virale et 6 polypeptides précoces (E1, E2, E4, E5, E6 et E7) impliqués dans la régulation, le maintien du génome viral et la transformation des cellules infectées.

15 S'agissant d'un polypeptide immunogène de type précoce, on choisit avantageusement de mettre en oeuvre un polypeptide dérivant de E6 ou de E7, modifié notamment de manière à présenter une localisation membranaire. Etant donné les observations rappelées plus haut sur le pouvoir transformant, on a de préférence recours à un variant non oncogène muté au niveau de la région impliquée
20 dans le processus de transformation cellulaire. De tels variants sont décrits dans la littérature (Munger et al., 1989, EMBO J. 8, 4099-4105 ; Crook et al., 1991, Cell 67, 547-556 ; Heck et al., 1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89, 4442-4446 ; Phelps et al., 1992, J. Virol. 66, 2418-2427). Un polypeptide immunogène convenant particulièrement aux fins de la présente invention, est l'antigène E6 de HPV-16
25 délété des résidus 111 à 115 (+1, représentant le premier acide aminé de l'antigène viral natif) et fusionné aux signaux de sécrétion et d'ancrage de la protéine F du virus de la rougeole (SEQ ID NO: 1). On peut également utiliser l'antigène E7 de HPV-16 délété des résidus 22 à 25 et fusionné aux séquences d'ancrage et de sécrétion de la glycoprotéine rabique (SEQ ID NO: 2).

30 La composition antitumorale selon l'invention peut également comprendre

un polypeptide immunogène originaire de la région tardive d'un papillomavirus, dérivant de L1 ou L2.

Bien entendu, la composition antitumorale selon l'invention peut comprendre plusieurs polypeptides immunogènes, dont l'un au moins présente une localisation
5 cellulaire différente de sa localisation native. On peut citer pour illustrer une composition associant plusieurs polypeptides dérivés de papillomavirus, ceux-ci pouvant avoir une origine commune ou différente (par exemple HPV-16 et 18 dans le but d'élargir le spectre d'action). Une composition combinant plusieurs polypeptides d'origine précoce permettra d'améliorer l'effet thérapeutique. La
10 combinaison des polypeptides dérivés de L1 et L2 pourrait avoir un effet bénéfique sur les propriétés préventives de la composition. Enfin, une composition qui convient tout particulièrement aux buts poursuivis par la présente invention comprend au moins un polypeptide précoce et au moins un polypeptide tardif de papillomavirus afin de combiner l'effet préventif et curatif. Selon un mode préféré, l'un au moins des
15 polypeptides immunogènes d'origine précoce est modifié de manière à présenter une localisation membranaire par adjonction de séquences de sécretion et d'ancrage telles que celles citées auparavant.

A cet égard, une composition préférée selon l'invention comprend :

- (1) un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou
20 identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1,
- (2) un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2,
- (3) un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou
25 identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1 et un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2,
- (4) un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou
30 identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1, un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou un polypeptide immunogène dérivant de la

protéine L2 d'un papillomavirus,

- 5 (5) un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2, un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus, ou
- 10 (6) un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1, un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2, un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus.

Le terme «homologue» fait référence à un degré d'identité avec ladite
15 séquence supérieure à 70 %, avantageusement supérieur à 80 %, de préférence, supérieure à 90 % et, de manière tout à fait préférée, supérieur à 95 %.

Avantageusement, une composition antitumorale selon l'invention peut
comprendre en outre au moins un composé améliorant son effet antitumoral, dans
le but d'augmenter l'intensité de la réponse immunitaire spécifiquement ou non.

20 Outre les adjuvants, les immunostimulateurs représentent des composés particulièrement préférés. Par "immunostimulateur", on entend un composé ayant la capacité de renforcer une réponse immunitaire humorale afin d'amplifier la production d'anticorps dirigés contre le polypeptide immunogène ou à médiation cellulaire, afin de déclencher une réponse cytotoxique significative à l'encontre des

25 cellules tumorales ou infectées. A titre indicatif, l'immunostimulation peut être évaluée en modèle animal cancéreux par comparaison du taux de rejet dans un animal traité avec le polypeptide immunogène, ceci en présence et en absence de l'immunostimulateur. D'une manière plus générale, les moyens pour mettre en évidence une immunostimulation sont indiqués dans Roitt (*Immunology*, 4th edition,

30 Moby Ltd). Un des avantages d'une telle composition est qu'elle combine l'immunité

spécifique induite par le polypeptide immunogène et l'immunité aspécifique induite par la molécule immunostimulatrice.

Dans le cadre de la présente invention, on peut utiliser un immunostimulateur natif, notamment d'origine humaine, une partie de celui-ci, une chimère provenant de la fusion de séquences d'origines diverses ou encore un mutant, à la condition
5 toutefois de conserver la fonction immunostimulatrice. Parmi toutes les molécules envisageables, on préférera mettre en oeuvre un immunostimulateur choisi parmi l'interleukine-2, l'interleukine-7, l'interleukine-12 et les molécules de co-adhésion B7.1 et B7.2. On indique que l'interleukine-2 et la molécule B7.1 sont
10 particulièrement préférées.

D'une manière générale, les polypeptides immunogènes et immunostimulateurs peuvent être produits par les méthodes conventionnelles de synthèse chimique ou bien par les techniques de l'ADN recombinant (voir par exemple Maniatis et al., 1989, *Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor, Laboratory
15 Press, Cold Spring Harbor, NY). Plus particulièrement, un procédé de préparation comprend l'acte de cultiver une cellule transformée par un fragment d'ADN codant pour le polypeptide en question pour générer une cellule productrice et l'acte de récolter ledit polypeptide à partir de la culture. La cellule productrice peut être d'une origine quelconque et sans limitation, une bactérie, une levure ou bien une cellule de
20 mammifère, dans la mesure où le fragment d'ADN considéré est soit intégré dans son génome soit intégré dans un vecteur d'expression approprié. Bien entendu, le fragment d'ADN est placé sous le contrôle de signaux de transcription et de traduction permettant son expression dans la cellule productrice. Vecteurs d'expression et signaux de contrôle sont connus de l'homme du métier.

25 La présente invention vise également une composition antitumorale comprenant à titre d'agent thérapeutique ou prophylactique au moins un vecteur recombinant comprenant les séquences codant pour un ou plusieurs polypeptides immunogènes, l'un au moins desdits polypeptides étant modifié de manière à présenter une localisation différente de sa localisation native et, éventuellement, pour
30 un composé améliorant l'effet antitumoral. Ce type de composition présente

l'avantage d'une production bon marché et d'une grande stabilité dans des conditions d'environnement variées. En particulier, les conditions de conservation sont moins contraignantes. Les polypeptides ont les caractéristiques telles que définies ci-avant.

Les séquences codant pour le polypeptide immunogène ou améliorant l'effet
5 antitumoral peuvent être obtenues par clonage, par PCR (Polymerase Chain Réaction) ou par synthèse chimique selon les techniques conventionnelles communément en usage et à partir des données de la littérature. Pour ce qui est du mode de réalisation préféré, les séquences codant pour les polypeptides de papillomavirus peuvent être isolées à partir de cellules papillomavirus positives
10 obtenues de patients ou de collections. L'insertion des signaux de localisation appropriés peut être réalisée par les techniques de biologie moléculaire. Les séquences codant pour l'immunostimulateur peuvent être clonées à partir de l'ADN cellulaire ou des ARN messagers d'une cellule dans laquelle il est exprimé. L'homme du métier est capable de générer les sondes ou amorces appropriées à partir des
15 données publiées. On indique que la séquence nucléotidique des génomes HPV-16 et 18 est divulguée dans Genbank aux numéros d'accès K02718 et X05015 respectivement. La séquence du gène humain IL-2 est décrite dans le brevet français 85 09480 et dans Taniguchi et al. (1983, *Nature* 302, 305-311) et celle codant pour l'antigène B7.1 dans Freeman et al. (1989, *J. of Immunology* 143, 2714-2722).

20 Un vecteur utilisable dans le cadre de l'invention peut être plasmidique ou viral, dérivé notamment d'un poxvirus, d'un adénovirus, d'un rétrovirus, d'un virus de l'herpès ou d'un virus associé à l'adénovirus. Avantageusement, il s'agira d'un vecteur non-intégratif et d'une virulence atténuée. De tels vecteurs ainsi que leurs techniques de préparation sont connus de l'homme de l'art.

25 Dans le cas où l'on met en oeuvre un vecteur adénoviral, on aura de préférence recours à un vecteur non replicatif par délétion de régions essentielles à la replication et, notamment, de la majorité de la région E1 afin d'éviter sa propagation au sein de l'organisme hôte ou l'environnement. Il va de soi que l'on peut modifier ou déléter d'autres régions du génome adénoviral, notamment au sein
30 des régions E2, E4 et/ou L1-L5, dans la mesure où les fonctions essentielles

défectives sont complémentées en *trans*. Pour illustrer ces modes de réalisation, on peut citer la mutation thermosensible affectant le gène DBP (pour DNA Binding Protein en anglais) de la région E2A (Ensinger et al., 1972, J. Virol. 10, 328-339). Une délétion partielle de la région E4 à l'exception des séquences codant pour les

5 cadres de lecture ouverts (ORF) 6 et 7 est également envisageable (Ketner et al., 1989, Nucleic Acids Res. 17, 3037-3048). Une autre possibilité est la délétion totale de l'unité transcriptionnelle E4. Par ailleurs, le vecteur adénoviral selon l'invention peut être dépourvu de tout ou partie de la région non essentielle E3. Selon cette alternative, il peut être intéressant de conserver néanmoins les séquences E3 codant

10 pour les polypeptides permettant l'échappement au système immunitaire de l'hôte, notamment la glycoprotéine gp19k (Gooding et al., 1990, Critical Review of Immunology 10, 53-71). Un vecteur adénoviral préféré selon l'invention retiendra au minimum les séquences essentielles à l'encapsidation, à savoir les ITRs (Inverted Terminal Repeat) 5' et 3' et la région d'encapsidation. On indique qu'il peut dériver

15 d'un adénovirus humain ou animal et d'un sérotype quelconque. Les adénovirus humains du sous groupe C et notamment les adénovirus 2 (Ad2) et 5 (Ad5) conviennent tout particulièrement à la mise en oeuvre de l'invention. Les différents vecteurs adénoviraux ainsi que leurs techniques de préparation sont conventionnels et sont décrits dans Graham et Preveet (1991, in *Methods in Molecular Biology*, vol

20 7, p 109-128 ; Ed : E.J. Murey, The Human Press Inc.) et dans la demande internationale WO 94/28152. Par exemple, il peut être généré *in vitro* dans *Escherichia coli* (*E.coli*) par ligation ou recombinaison homologue (voir par exemple la demande internationale W096/17070) ou encore par recombinaison dans une lignée de complémentation.

25 S'il s'agit d'un rétrovirus, on conserve les LTRs (Long Terminal Repeat) et les séquences d'encapsidation (voir par exemple Naviaux et Verma, 1992, Current Opinion in Biotechnology 3, 540-547). La séquence codant pour le(s) polypeptide(s) immunogène(s) peut être placée sous le contrôle du LTR rétroviral ou d'un promoteur interne tels que ceux décrits ci-après. Il peut dériver d'un rétrovirus

30 d'une origine quelconque (murin, primate, félin, humain etc...) et en particulier du

MoMuLV (Moloney murine leukemia virus), MVS (Murine sarcoma virus) ou Friend murine retrovirus (Fb29). Il peut également comporter des modifications notamment au niveau des LTR (remplacement de la région promotrice par un promoteur eucaryote) ou de la région d'encapsidation (remplacement par une région d'encapsidation hétérologue, par exemple de type VL30) (voir les demandes françaises 94 08300 et 97 05203).

Selon un mode de réalisation avantageux, un vecteur recombinant selon l'invention dérive d'un poxvirus et, notamment, d'un poxvirus aviaire, tel que le poxvirus du canari, d'un fowlpox ou d'un virus de la vaccine, ce dernier étant
10 préféré. Parmi tous les virus de la vaccine envisageables dans le cadre de la présente invention, on choisit de préférence les souches Copenhague, Wyeth et Ankara modifiée (MVA pour Modified Vaccinia Virus Ankara).

Généralement, le site d'insertion est choisi dans une région non essentielle à la réplication de sorte que les capacités de réplication et propagation du virus recombinant ne sont pas altérées. A titre indicatif, lorsque l'on utilise un virus de la
15 souche Copenhague, le site d'insertion préféré est le locus TK, ce qui a pour effet d'inactiver celui-ci et ainsi faciliter la sélection des recombinants. On peut également utiliser le locus K1L. Pour ce qui est d'un virus MVA, l'insertion des séquences recombinantes (immunogènes et immunostimulatrices) peut être réalisée au sein de
20 l'une au moins des excisions I à VI et, notamment II ou III (Meyer et al., 1991, J. Gen. Virol. 72, 1031-1038 ; Sutter et al., 1994, Vaccine 12, 1032-1040). L'insertion peut également avoir lieu dans une région virale essentielle, comme la région D4R, la fonction défective pouvant être fournie *en trans* par exemple par le biais d'une lignée de complémentation.

Bien entendu, dans le cadre de la présente invention, les séquences codant pour le polypeptide immunogène ou améliorant l'effet antitumoral sont placées sous le contrôle des éléments nécessaires à leur expression dans une cellule ou un organisme hôte. Ceux-ci incluent les éléments de régulation de la transcription ainsi que des signaux d'initiation et de terminaison de la traduction. Parmi eux, le
30 promoteur revêt une importance particulière. D'une façon générale, on aura recours

à un promoteur fonctionnel dans l'organisme ou la cellule hôte que l'on veut traiter et adapté au vecteur employé. En outre, il peut être modifié de manière à contenir des séquences régulatrices, par exemple un élément activateur de la transcription ou des séquences répondant à certains signaux cellulaires. A cet égard, il peut être
5 avantageux d'utiliser un promoteur tissu-spécifique puisque les lésions associées aux papillomavirus sont localisées au niveau des voies génitales ou un promoteur répondant à des signaux spécifiquement tumoraux (par exemple activé en présence de facteurs de croissance généralement surexprimés par les cellules tumorales) afin de limiter l'expression aux seules cellules tumorales.

10 Parmi les promoteurs envisageables dans le cadre de l'invention, on peut citer les promoteurs SV40 (Virus Simian 40), HMG (Hydroxy-Methyl-Glutaryl-coenzyme A), TK (Thymidine Kinase), CMV (cytomégalovirus), RSV (Rous Sarcoma Virus), MLP (Major Late Promoter) adapté au vecteur adénoviraux et le LTR du Mo-MLV (Moloney Murine Leukemia Virus) plus spécifique des vecteurs rétroviraux. Le
15 promoteur précoce du Cytomégalovirus (CMV) est tout particulièrement préféré. Il peut également s'agir d'un promoteur stimulant l'expression dans une cellule tumorale ou cancéreuse. On peut citer notamment les promoteurs des gènes MUC-1 surexprimé dans les cancers du sein et de la prostate (Chen et al., 1995, J. Clin. Invest. 96, 2775-2782), tyrosinase surexprimé dans les mélanomes (Vile et al., 1993,
20 Cancer Res. 53, 3860-3864) et ERB-2 surexprimé dans les cancers du sein et du pancréas (Harris et al., 1994, Gene Therapy 1, 170-175). Les promoteurs en question sont décrits dans la littérature et peuvent être clonés à partir du génome cellulaire ou viral par les techniques classiques.

S'agissant d'un vecteur poxviral, on aura recours à un promoteur pox, par
25 exemple 7,5K, H5R, TK, p.28, p.11 ou encore K1L du virus de la vaccine. Un promoteur synthétique convient également à la mise en oeuvre de la présente invention (voir par exemple Chakrabarti et al., 1997, Biotechniques 23, 1094-1097 ; Hammond et al., 1997, J. Virological Methods 66, 135-138 et Kumar et Boyle, 1990, Virology 179, 151-158). A cet égard, il s'agit avantageusement d'un
30 promoteur chimère entre un promoteur tardif et un promoteur précoce.

Par ailleurs, les éléments nécessaires à l'expression peuvent également comporter des séquences améliorant l'expression ou le maintien dans la cellule hôte (intron, séquence terminatrice de la transcription, site d'initiation de la traduction....). Cependant, dans le cas d'un vecteur poxviral, on évitera l'emploi d'introns.

5 Une composition selon l'invention peut comprendre un seul ou plusieurs vecteurs recombinants exprimant les séquences correspondant aux polypeptides choisis placés, sous le contrôle d'éléments indépendants ou communs. Selon cette dernière option, on peut avoir recours à des séquences permettant d'initier la traduction de manière interne (IRES) ou à des fusions en phase des différents gènes.

10 Les conditions générales d'obtention d'un vecteur recombinant en usage dans la présente invention sont largement décrites dans l'état de la technique. S'agissant d'un vecteur poxviral, on peut se référer au brevet européen EP 83 286 dont le contenu est ici incorporé par référence. Ces conditions sont applicables aux autres virus acceptables comme vecteur qui possèdent une région génomique dans laquelle
15 les blocs d'expression peuvent être incorporés. Bien entendu, ils peuvent être insérés dans le même locus ou un locus différent.

Conformément aux buts poursuivis par la présente invention, un vecteur recombinant peut en outre comprendre un bloc d'expression d'un gène marqueur de sélection afin de faciliter les étapes d'isolement et de purification du virus
20 recombinant. On peut citer notamment le gène *neo* conférant la résistance à l'antibiotique G418, le gène *pac* de résistance à la puromycine, le gène TK du virus de l'herpès simplex de type 1 (HSV-1) qui confère la sensibilité à certains analogues de nucléosides tels que le ganciclovir ou l'acyclovir, le gène *gpt* (xanthine guanine phosphoribosyl transférase), les gènes bactériens *LacZ* codant pour la β -galactosidase et *gus A* codant pour la β -glucuronidase. Ces deux derniers marqueurs
25 enzymatiques permettent de repérer les virus recombinants par coloration en présence des substrats X-Gal (5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactopyranoside) et XglcA (5-bromo-6-chloro-3-indolyl- β -D-glucoronide) respectivement.

30 Une composition antitumorale préférée est destinée au traitement ou la prévention d'une infection ou tumeur à papillomavirus, et comprend au moins un

virus de la vaccine de la souche Copenhagen ou MVA dans lequel sont insérées :

- (1) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1,
- 5 (2) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2,
- (3) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1 et pour un polypeptide immunogène ayant
10 une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2,
- (4) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1, pour un polypeptide immunogène dérivant
15 de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus,
- (5) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2, pour un polypeptide immunogène dérivant
20 de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou un pour polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus, ou
- (6) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1, pour un polypeptide immunogène ayant une
25 séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2, pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus.
- 30 Ladite composition peut également comprendre les séquences codant pour

un immunostimulateur de préférence choisi parmi L'IL-2 ou B7.1. Il peut être porté par l'un des vecteurs recombinants permettant l'expression du ou des gènes immunogènes ou par un vecteur indépendant.

Une composition selon l'invention peut être préparée selon les procédés
5 connus dans le domaine des vaccins et les doses applicables peuvent varier dans une large gamme. Elles sont fonctions notamment des polypeptides et du vecteur employés, de la pathologie à traiter, de l'état du patient et d'autres paramètres qui peuvent être évalués par le clinicien. Cependant, en général, la dose de virus sera de 10^4 à 10^{13} , avantageusement de 10^5 à 10^{12} et, de préférence de 10^5 à 10^9 unités
10 formant des plages (ufp) lorsque l'agent thérapeutique est un vecteur viral et de 0,05 à 500 mg, avantageusement de 0,5 à 200 mg et, de préférence de 1 à 100 mg lorsque l'agent thérapeutique est d'origine polypeptidique.

Une composition selon l'invention peut être administrée selon n'importe quelle voie conventionnelle d'administration, de préférence systémique et en
15 particulier par voie intramusculaire, intraveineuse, intrapulmonaire, sous-cutanée ou sous-épithéliale ou bien par scarification. Dans le cas d'une tumeur accessible, il est également possible de recourir à une injection directe dans le site ou à proximité de la tumeur ou à une application topicale. A titre de vaccin, une composition selon l'invention peut être administrée selon les pratiques courantes dans le domaine, par
20 exemple en dose unique ou répétée une ou plusieurs fois après un certain délai d'intervalle. Par contre dans le cadre d'un traitement curatif, elle peut être administrée fréquemment pendant une période suffisante pour que le traitement soit efficace. Lorsque l'agent thérapeutique est un vecteur viral, le virus est de préférence sous forme vivante. S'agissant d'un vecteur poxviral, on préférera employer une
25 souche atténuée comme la souche MVA ou la souche Copenhague thymidine kinase négative. Enfin un vecteur viral recombinant peut être atténué par un traitement chimique approprié connu de l'homme du métier. Toutefois, on peut aussi envisager d'injecter un vecteur recombinant tué.

Selon un mode de mise en oeuvre préféré, une composition antitumorale
30 selon l'invention comprend une quantité thérapeutiquement efficace de l'agent

thérapeutique en association avec un support acceptable d'un point de vue pharmaceutique. Le support est choisi de manière à permettre son administration par injection à l'homme ou à l'animal. Elle peut également comprendre un véhicule, un diluant et/ou un adjuvant et se présenter sous forme liquide ou lyophilisée. A cet

5 égard, l'association à une ou plusieurs substances susceptibles d'améliorer l'efficacité transfectionnelle et/ou la stabilité du vecteur peut être envisagée. Ces substances sont largement documentées dans la littérature accessible à l'homme de l'art (voir par exemple Felgner et al., 1989, Proc. West. Pharmacol. Soc. 32, 115-121 ; Hodgson et Solaiman, 1996, Nature Biotechnology 14, 339-342 ; Remy et al.,

10 1994, Bioconjugate chemistry 5, 647-654). A titre illustratif et non limitatif, il peut s'agir de polymères, de lipides notamment cationiques, de liposomes, de protéines nucléaires et de lipides neutres. Une combinaison envisageable est un vecteur plasmidique associé à des lipides cationiques (DC-Chol, DOGS ... etc) et des lipides neutres (DOPE). La composition peut également être associée à d'autres

15 substances, notamment anti-cancéreuses, celles-ci pouvant être administrées séparément ou de façon concomitante. Le ligand Flt3 est un exemple parmi d'autres (Lynch et al., 1997, Nature Medicine 3, 625 ; Brasel et al., 1996, Blood 88, 2004-2012 ; Marakovsky et al., 1996, J. Exp. Med. 184, 1953-1962). On indique que la composition peut être sous forme de pseudoparticules lorsqu'elle comprend les

20 polypeptides L1 et/ou L2.

La présente invention a également pour objet un vecteur recombinant comprenant au moins les séquences codant pour un polypeptide immunogène originaire d'une région précoce et/ou tardive d'un papillomavirus, ledit polypeptide ayant les caractéristiques définies ci-avant. Il peut en outre porter d'autres séquences

25 d'intérêt, par exemple codant pour un ou plusieurs autres peptides immunogènes et/ou immunostimulateurs, tels que décrits auparavant.

Le choix d'un vecteur selon l'invention est large. Il peut s'agir d'un vecteur plasmidique ou viral tel que ceux cités ci-dessus. Un mode de réalisation préféré consiste en un vecteur poxviral et tout particulièrement un virus de la vaccine de la

30 souche Copenhague ou MVA. Les sites d'insertion et les éléments nécessaires à

l'expression des séquences d'intérêt à exprimer peuvent être choisis parmi ceux mentionnés précédemment.

Un vecteur préféré est un virus de la vaccine de la souche Copenhague ou MVA dans lesquels sont insérées :

- 5 (1) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1,
- (2) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée
10 dans la SEQ ID NO: 2,
- (3) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée
15 dans la SEQ ID NO: 1 et pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2,
- (4) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée
20 dans la SEQ ID NO: 1, pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus,
- (5) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée
25 dans la SEQ ID NO: 2, pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus, ou
- (6) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée
30 dans la SEQ ID NO: 1, pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2, pour un polypeptide immunogène dérivant

de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus.

Il peut de manière optionnelle également inclure les séquences codant pour l'IL2 ou le polypeptide B7.1

5 La présente invention concerne également une particule virale préparée à partir d'un vecteur viral recombinant selon l'invention. S'agissant d'un vecteur adénoviral, les particules virales peuvent être générées par transfection du vecteur dans une cellule de complémentation adaptée à ses déficiences. On aura par exemple recours à la lignée 293 établie à partir de cellules de rein embryonnaire humain, qui
10 complémente efficacement la fonction E1 (Graham et al., 1977, J. Gen. Virol. 36, 59-72), la lignée A549-E1 (Imler et al., 1996, Gene Therapy 3, 75-84) ou une lignée permettant une double complémentation (Yeh et al., 1996, J. Virol. 70, 559-565 ; Krougliak et Graham, 1995, Human Gene Therapy 6, 1575-1586 ; Wang et al., 1995 Gene Therapy 2, 775-783 ; demande internationale WO 97/04119). Par cellule de
15 complémentation, on entend une cellule capable de complémenter *en trans* un vecteur défectif pour générer une particule virale. Ladite cellule peut ne pas complémenter à elle seule toutes les fonctions défectives du vecteur et dans ce cas on peut avoir recours à un virus auxiliaire pour une complémentation partielle. La particule virale peut être récupérée du surnageant de culture mais également des
20 cellules. Une des méthodes couramment employée consiste à lyser les cellules par des cycles consécutifs de congélation/décongélation pour recueillir les virions dans le surnageant de lyse. Ceux-ci peuvent être amplifiés et purifiés selon les techniques de l'art (procédé chromatographique, ultracentrifugation notamment à travers un gradient de chlorure de césium ...).

25 Une particule rétrovirale peut être obtenue par transfection du vecteur rétroviral dans une lignée appropriée, par exemple une lignée capable de fournir *en trans* les polypeptides viraux gag, pol et/ou env dont les séquences sont délétées / non fonctionnelles dans le vecteur. De telles lignées sont décrites dans la littérature (PA317, Psi CRIP GP + Am-12 etc...)

30 S'agissant d'un vecteur poxviral, les conditions générales d'obtention d'un

virus de la vaccine capable d'exprimer un gène hétérologue sont enseignées dans le brevet européen EP 83 286 et la demande EP 206 920. Quant au virus MVA, il est plus particulièrement décrit dans Mayr et al. (1975, Infection 3, 6-14) et Sutter et Moss (1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89, 10847-10851). Brièvement, le(s)
5 gène(s) à transférer placé(s) sous le contrôle des éléments appropriés pour son (leur) expression *in vivo* est (sont) inséré(s) dans un vecteur de transfert incluant des séquences virales de part et d'autre du site d'insertion. Il est introduit dans des cellules infectées par un virus de la vaccine infectieux. Le gène recombinant est intégré dans le génome viral par recombinaison homologue entre les séquences
10 homologues du virus infectieux et du vecteur de transfert.

Le vecteur recombinant ou la particule virale peut être éventuellement associé à une ou plusieurs substances améliorant l'efficacité transfectionnelle et/ou la stabilité du vecteur déjà citées.

Dans le cadre de la présente invention, ledit polypeptide immunogène peut
15 être ancré dans la structure protéique entourant la particule virale (capside, enveloppe...).

Les poxvirus sont des structures complexes entourées par de multiples membranes. Deux types de particules virales sont produites : les virions matures intracellulaires (IMV) et les virions enveloppés extracellulaires (EEV). La surface
20 des IMV est composée de 2 membranes superposées et l'enveloppe des EEV consiste en 4 membranes incluant la membrane plasmique. Conformément aux buts poursuivis par la présente invention, les séquences codant pour le polypeptide immunogène peuvent également être modifiées en vue d'une insertion dans l'une ou l'autre des membranes poxvirales (IMV ou EEV) dans le but d'améliorer la réponse
25 immune. Selon un mode de réalisation avantageux, le peptide immunogène est ancré dans la membrane externe de l'enveloppe d'une particule EEV (Katz et al. 1997, AIDS Res. Hum. Retrov. 13, 1497-1500). Pour ce faire, les séquences codant pour la partie C-terminale de la protéine B5R, constituant protéique de ladite membrane externe, sont insérées en 3' de la région codante du polypeptide immunogène juste
30 en amont du codon STOP. Un exemple tout à fait préféré est une fusion entre le

polypeptide E7 ou un de ses mutants non oncogènes et les 42 résidus C-terminaux de la protéine B5R. L'effet bénéfique sur la réponse immune peut être évalué par des études d'immunoprophylaxie et d'immunothérapie selon le protocole décrit dans les exemples qui suivent comparant les différentes formulations (localisation native, ancrage dans la membrane cellulaire, ancrage dans la membrane virale).

La présente invention concerne également l'utilisation d'une composition antitumorale, d'un vecteur recombinant ou d'une particule virale selon l'invention, pour la préparation d'un médicament pour le traitement ou la prévention du cancer ou de tumeurs et, en particulier du cancer du col de l'utérus, d'une dysplasie du col de bas grade ou d'une infection à papillomavirus. L'utilisation préférée est pour la préparation d'un médicament injectable par la voie intramusculaire.

Enfin, la présente invention a également trait à une méthode de traitement ou de prévention des pathologies citées ci-dessus, selon laquelle on administre à un individu ayant besoin d'un tel traitement une quantité efficace d'un point de vue pharmaceutique d'une composition antitumorale, d'un vecteur recombinant ou d'une particule virale selon l'invention.

La présente invention est illustrée par référence aux figures suivantes.

La Figure 1 est une représentation schématique de pTG8042. BRG3 et BRD3 représentent les bras de recombinaison gauche et droit permettant l'insertion au niveau de la zone d'excision III du virus MVA. pTG8042 comprend une cassette d'expression du gène E6 de HPV16 fusionné à la séquence signal (SF) et la région transmembranaire (TMF) de la protéine F du virus de la rougeole, dirigé par le promoteur 7.5k ; une cassette d'expression du gène IL-2 placé sous le contrôle du promoteur pH5R ; une cassette d'expression du gène E7 de HPV16 fusionné à la séquence signal (SR) et la région transmembranaire (TMR) de la glycoprotéine rabique, placé sous le contrôle du promoteur p7.5 et une cassette d'expression du gène *gusA* (*uidA*) placé sous le contrôle du promoteur p7.5

La Figure 2 est une représentation schématique du vecteur pTG9936. BRG3

et BRD3 représentent les bras de recombinaison gauche et droit permettant l'insertion au niveau de la zone d'excision III du génome MVA. Le pTG9936 porte le promoteur p4BK1L dirigeant l'expression du gène marqueur *gpt* le promoteur p4BK1L dirigeant l'expression du gène L2 de HPV16, le promoteur pH5R dirigeant l'expression de l'IL-2, le promoteur p11k7.5 dirigeant l'expression du gène L1 de HPV16, le promoteur p7.5 dirigeant l'expression du gène E7 de HPV16 fusionné à la séquence signal (SR) et la région transmembranaire (TMR) de la glycoprotéine du virus rabique suivi d'une séquence IRES et du gène E6 de HPV16 fusionné à la séquence signal (SF) et la région transmembranaire (TMF) de la protéine F du virus de la rougeole.

La Figure 3 illustre l'expérience N121 en présentant le pourcentage de survie en fonction du temps (en jours) des animaux vaccinés avant épreuve tumorale avec le virus MVATG8042, MVATG6090, MVAN33 ou avec du PBS.

La Figure 4 représente le pourcentage d'animaux sans tumeurs en fonction du temps (en jours) après administration de 10^7 , 10^6 ou 10^5 pfu de virus MVAN33 ou MVATG8042 (expérience N127).

La Figure 5 illustre l'expérience N134 en présentant le pourcentage de survie en fonction du temps (en jours) des animaux traités par le virus MVATG8042 ou par le contrôle MVAN33 par scarification, voie sous-cutanée (SC), intrapéritonéale (IP) et intramusculaire (IM).

EXEMPLES

La présente invention est plus complètement décrite, sans pour autant être limitée, à l'aide des exemples suivants.

Les constructions décrites ci-dessous sont réalisées selon les techniques générales de génie génétique et de clonage moléculaire, détaillées dans Maniatis et al., (1989, *supra*) ou selon les recommandations du fabricant lorsqu'on utilise un kit commercial. La mutagenèse dirigée *in vitro* par oligonucléotides synthétiques est effectuée à l'aide du kit distribué par Amersham. Les techniques d'amplification par

PCR sont connues de l'homme de l'art (voir par exemple PCR Protocols-A guide to methods and applications, 1990, édité par Innis, Gelfand, Sninsky et White, Academic Press Inc). S'agissant de la réparation des sites de restriction, la technique employée consiste en un remplissage des extrémités 5' protubérantes à l'aide du grand fragment de l'ADN polymérase I d'*E. coli* (Klenow). En ce qui concerne les étapes de clonage, les bactériophages M13 recombinants sont multipliés sur la souche *E. coli* NM522 (Stratagène) dans un milieu minimum gélosé (agar 7,5 %) ou dans un milieu riche LBM liquide. Les plasmides recombinants portant le gène de résistance à l'ampicilline sont répliqués dans les souches *E. coli* C600 (Stratagène), BJ 5183 (Hanahan, 1983, J. Mol. Biol. 166, 557-580) et NM522 sur milieu gélosé ou liquide supplémenté de 100 µg/ml d'antibiotique. On utilise préférentiellement la souche BJ5183 lorsque le clonage est effectué par recombinaison homologue (Bubeck et al., 1993, Nucleic Acid Res. 21, 3601-3602).

La construction des virus de la vaccine recombinants est effectuée selon la technologie classique dans le domaine divulguée dans les documents déjà cités et dans Mackett et al., (1982, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79, 7415-7419) et Mackett et al. (1984, J. Virol. 49, 857-864).

Les tests *in vivo* (immunoprophylaxie ou immunothérapie) sont réalisés sur des souris femelles C57Bl6 (C. Rivers Rouen, France) ou des souris nude (Janvier, Le Genest St. Isle, France) âgées de 6 à 8 semaines. Les animaux sont généralement répartis en groupes de 20 (sauf lorsqu'indiqué) selon les virus, la dose ou la voie d'administration à tester. Les cellules tumorales TC1 (Wu, John Hopkins University, Baltimore, USA) sont obtenues de cellules de poumon prélevées de souris C57 Bl6 transduites avec deux rétrovirus, l'un exprimant les gènes E6 et E7 natifs de HPV-16 et l'autre exprimant l'oncogène ras. Les cellules sont cultivées en milieu DMEM (Dubelcco Modified Eagles Medium) en présence de G418 (0,5 mg/ml). Les cellules sont utilisées pour l'épreuve animale après traitement à la trypsine et 3 lavages en milieu isotonique.

EXEMPLE 1 : Construction des vecteurs portant les séquences codant pour les

mutants non oncogènes de E6 et E7 de HPV-16 munis de
signaux de localisation transmembranaire.

Les gènes E6 et E7 sont isolés à partir de la lignée cellulaire Caski comme
5 décrit aux exemples 2 et 3 du brevet européen EP 0 462 187. Deux constructions
ont été dérivées du clone M13E7/E6 contenant les gènes E6 et E7 du HPV-16 afin
de faciliter les étapes ultérieures de clonage. La première désignée M13TG8188
résulte de l'introduction par mutagenèse dirigée de sites *Pst*I et *Bam*HI
respectivement en amont et en aval du gène E7 et la seconde, M13TG8189
10 comporte un site *Pst*I en amont du gène E6. L'introduction de mutations ponctuelles
en amont d'un ATG initiateur et en aval d'un codon stop sont à la portée de l'homme
de l'art.

L'association de la protéine E7 de HPV-16 avec le produit du gène de
rétinoblastome a été démontrée par divers auteurs (voir par exemple Munger et al.,
15 1989, EMBO J. 8, 4099-4105) et corrélée à son pouvoir transformant. Pour des
raisons évidentes de sécurité, on génère un mutant non oncogène délété des codons
21 à 26 de la protéine E7 native impliqués dans la fonction de transformation, par
mutagenèse dirigée du vecteur M13TG8188 à l'aide de l'oligonucléotide oTG5118
(SEQ ID NO: 3). On obtient M13TG9104 portant le gène E7 muté, désigné ci-après
20 E7*.

Les signaux de sécrétion et d'ancrage de la glycoprotéine rabique sont isolés
du gène de la glycoprotéine rabique inséré sous forme d'un fragment *Bgl*II dans le
pBR327 (pTG150 décrit dans le brevet français 83 15716) et sous cloné en vecteur
M13 (M13TG177). On introduit entre ces signaux un site *Bam*HI en phase avec ces
25 derniers par mutagenèse dirigée à l'aide de l'oligonucléotide oTG5745 (SEQ ID NO:
4). La construction résultante est dénommée M13TG9128. Les séquences de
sécrétion et d'ancrage sont ensuite isolées du M13TG9128 par digestion *Pst*I et
insérées en 3' du promoteur naturel du virus de la vaccine p7.5 dans le vecteur
pTG5003 linéarisé par *Pst*I, pour donner pTG5016. A titre indicatif, pTG5003
30 dérive du pTG186poly (décrit dans le brevet français 2 583 429) par digestion *Sal*I,

traitement par le fragment Klenow, puis digestion par *Sma*I et religation, de sorte qu'il ne contient plus dans son polylinker que les sites *Pst*I et *Eco*RI à l'exclusion de tout autre. Le vecteur M13TG9104 est modifié par mutagenèse dirigée à l'aide des oligonucléotides oTG6390 et oTG6880 (SEQ ID NO: 5 et 6) afin de mettre en
5 phase les séquences E7* et les signaux de sécrétion et d'ancrage de la glycoprotéine rabique (désignées par la suite E7*TMR). La construction résultante est dénommée M13TG9150.

De même, il a été démontré que la protéine E6 de HPV-16 pouvait interagir avec le produit d'expression du gène suppresseur de tumeur *p53* (Crook et al., 1991,
10 Cell 67, 547-556). Le domaine impliqué dans cette interaction a clairement été défini et se situe entre les résidus 111 à 115 de la protéine native. Le vecteur M13TG9125 est généré par mutagenèse de M13TG8189 à l'aide de l'oligonucléotide oTG5377 (SEQ ID NO: 7). Le gène E6 λ 111-115 est désigné ci-après E6*.

Les signaux de sécrétion et d'ancrage de la protéine F du virus de la
15 rougeole sont isolés par PCR à partir de la construction plasmidique pTG2148 (décrite dans le brevet européen EP 0 305 229) contenant l'ADN codant pour la protéine F du virus de la rougeole. La fusion entre ces séquences et celles codant pour E6* est réalisée par PCR direct : la séquence de sécrétion est amplifiée à l'aide des oligonucléotides oTG10829 portant en 5' un site *Xba*I (SEQ ID NO: 8) et
20 oTG10830 recouvrant l'extrémité 5' de E6 (SEQ ID NO: 9), les séquences codant pour le mutant E6* sont amplifiées à partir du M13TG9125 à l'aide des oligonucléotides oTG10835 permettant la fusion avec l'extrémité 3' du signal de sécrétion de la protéine F (SEQ ID NO: 10) et oTG10836 permettant la fusion avec l'extrémité 5' de la séquence d'ancrage de la protéine F (SEQ ID NO: 11). Pour la
25 séquence d'ancrage, on met en oeuvre les amorces oTG10833 permettant la fusion entre le 3' de E6* et le 5' de la séquence d'ancrage (SEQ ID NO: 12) et oTG10834 créant en 3' les sites *Kpn*I et *Sph*I (SEQ ID NO: 13). Le fragment amplifié portant les séquences E6* fusionnées en N et C terminal respectivement aux séquences de sécrétion et d'ancrage membranaire de la protéine F (désignées par la suite E6*TMF)
30 est digéré par *Xba*I et *Sph*I puis inséré aux mêmes sites dans le vecteur M13TG131

(Kieny et al., 1983, Gene 26, 91-99). La construction ainsi obtenue est appelée M13TG9199.

EXEMPLE 2 : Construction du virus recombinant MVATG8042 exprimant les
5 antigènes E6 et E7 de localisation transmembranaire et l'IL-2
humaine.

Le virus MVA dérive de la souche du virus de la vaccine Ankara. Il n'est pas capable de générer des particules infectieuses sur les cellules de mammifères mais se
10 développe correctement sur des fibroblastes embryonnaires de poulet. Son adaptation à ces cellules a provoqué l'excision de 6 régions non essentielles pour son développement et son cycle infectieux sur ce type de cellules (disparition d'environ 15 % du génome viral ; Meyer et al., 1991, J. Gen. Virol. 72, 1031-1038). L'intégration de matériel génétique exogène peut être réalisée au niveau de l'une
15 quelconque de ces zones d'excision. Dans le cadre de la présente invention, on utilise les excisions II et III localisées au niveau des fragments de restriction *Hind*III N et A respectivement (Altenburger et al., 1989, Arch. Virol. 105, 15-27).

Dans un premier temps, on construit le vecteur pTG6019 permettant l'insertion dans la zone d'excision III du virus MVA. Les bras de recombinaison
20 homologue de part et d'autre de la zone d'excision III sont isolés par PCR à partir du génome viral (voir brevet américain US 5,185,146) et des amorces oTG7637 et oTG7638 (SEQ ID NO: 14 et 15) pour le bras gauche et oTG7635 et oTG7636 (SEQ ID NO: 16 et 17) pour le bras droit. Les fragments amplifiés sont clonés au site *Eco*RI du vecteur pTG1E, pour donner pTG6019. Le matériel génétique à
25 transférer est inséré entre les deux bras de recombinaison. Le vecteur pTG1E est similaire au pTG1H (brevet français 2 583 429) mis à part la présence d'un adaptateur *Eco*RI à la place de sites multiples de clonage.

On insère en premier lieu une cassette d'expression du gène marqueur *gus A*. Le promoteur 7,5K est tout d'abord cloné dans le site *Bam*HI de pTG6019. On
30 obtient pTG6021 dans le site *Bam*HI duquel on insère le gène *gus A* généré sous

forme d'un fragment *BglII-BamHI*. Celui-ci peut être obtenu à partir de la séquence divulguée dans la littérature. La construction résultante est dénommée pTG6022. La présence du marqueur va permettre de discriminer les virus sauvages des virus recombinants par détection de l'activité enzymatique GUS par le substrat XglcA.

5 Une coloration rouge révèle l'activité β -glucuronidase. Cependant, dans l'optique d'une application clinique, il peut être utile d'être en mesure d'éliminer ce marqueur bactérien du produit final après la sélection des virus recombinants. Pour ce faire, on met à profit la capacité de la vaccine à déléter les séquences comprises entre deux sites homologues. C'est pourquoi on insère un second promoteur p7,5K en aval du

10 gène *gus A* dans une orientation sens par rapport à celui qui dirige l'expression de ce dernier. Le vecteur pTG6025 résulte de l'insertion entre les sites *BamHI* et *SacI* de pTG6022 d'un fragment p7,5K muni d'extrémités cohésives.

Par ailleurs, l'ADNc codant pour l'interleukine-2 humaine est isolé du plasmide pTG36 (brevet français 2 583 770) par digestion *PstI* et inséré dans le site

15 *PstI* du plasmide pTG186 (brevet français 2 583 429), donnant lieu à pTG188. Le virus obtenu par recombinaison homologue est dénommé VVTG188. Après digestion *BglII/EcoRI*, les séquences IL-2 sont insérées en 3' du promoteur naturel de la vaccine pH5R aux sites *BamHI/EcoRI* du M13TG9132, pour donner M13TG9185. A titre indicatif, le vecteur M13TG9132 provient de l'insertion du

20 promoteur du gène H5R isolé par PCR du génome viral dans le phage M13TG6131, lequel dérive de M13TG131 (Kieny et al., 1983, *supra*) par mutation du site *BglII* interne situé en dehors des sites multiples de clonage.

Les gènes HPV-16 et IL-2 sont ensuite clonés dans la zone d'excision III du génome du MVA. Les séquences E7*TMR sont isolées par digestion *BglII/HindIII*

25 et insérées entre les sites *BamHI* et *HindIII* du pTG6025 en 3' du promoteur vaccine p7.5. La construction résultante est dénommée pTG6050. Un site d'insertion de la cassette d'expression du gène de l'IL-2 humaine par recombinaison homologue est créé entre les sites *HindIII* et *KpnI* du pTG6050 par insertion des oligonucléotides oTG10502 et oTG10503 (SEQ ID NO: 18 et 19). Le vecteur généré pTG6074 est

30 ensuite linéarisé par digestion *HindIII/KpnI* et la recombinaison homologue avec la

cassette d'expression pH5R-IL-2 isolée du M13TG9185 par digestion *BglII/EcoRI* est réalisée. La construction résultante pTG6088 est finalement linéarisée par *KpnI* et mis en ligation avec le gène E6*TMF isolé du M13TG9199 par digestion *KpnI/XbaI* et le promoteur p7.5 isolé du M13TG9136 par digestion *XbaI/KpnI*. La
5 construction résultante est dénommée pTG8042 (Figure 1). Le vecteur M13TG9136 provient de M13TG5107 modifié par mutagenèse dirigée à l'aide des oTG5925 (création d'un site *PstI* en 3' du promoteur p7.5 ; SEQ ID NO: 20) et oTG5924 (création d'un site *BamHI* et *KpnI* en 5' du promoteur p7.5 ; SEQ ID NO: 21).

Le virus MVATG8042 est généré par recombinaison homologue avec le
10 génome MVA selon les règles de l'art. L'isolement des recombinants est facilité par la présence du gène marqueur *gusA*.

On vérifie que la modification de localisation cellulaire des antigènes précoces de HPV ne nuit pas à leur expression. L'analyse par Western blot d'extraits cellulaires infectés par MVATG8042 à l'aide d'un anticorps anti-E7 permet la
15 détection de 3 bandes d'un poids moléculaire compris entre 20 et 35 kDa. Cette hétérogénéité peut être expliquée par la présence d'un site potentiel de O-glycolysation dans la zone d'ancrage membranaire de la glycoprotéine rabique. Lorsque l'analyse Western blot est répétée en présence de Phényl-Gal-Nac (Phényl N-acétyl α D galactopyranoside, Sigma, P4023), on ne détecte qu'une seule forme
20 de 20 kDa ce qui confirme la O-glycosylation du produit d'expression du gène E7*TMF.

La détection par Western blot à l'aide d'un anticorps anti E6 du produit d'expression du gène E6*TMF ne met en évidence qu'une seule bande migrant au poids moléculaire attendu de 20 kDa, ce qui confirme l'absence de modifications
25 post-traductionnelles. A titre indicatif, les anticorps anti-E6 et E7 précités sont des antisérum de lapins obtenus par administration de l'antigène purifié. Mais tout autre anticorps spécifique, qu'il soit monoclonal ou polyclonal, peut également convenir.

L'expression du gène hIL-2 est évaluée par ELISA (Quantikine R&D Systems) et test de prolifération cellulaire IL-2 dépendant. Selon les conditions de
30 culture, la quantité d'IL-2 produite varie de 200 à 800 ng/ml/24 h par 10^6 cellules

infectées avec 0,1 pfu/cellule.

EXEMPLE 3 : Efficacité *in vivo* du virus MVATG8042 (immunothérapie).

5 Des souris C57BL6 sont inoculées avec 10^3 cellules BMK-16 myc
implantées en voie sous-cutanée. A titre indicatif, la lignée cellulaire dérive de
cellules de rein de souris nouveau-nées transfectées par le génome HPV-16 et le
gène c myc murin. 10^7 pfu (unités formant des plages) de virus MVATG8042 sont
ensuite administrés également en sous-cutanée à J3, J6 et J9 et l'évolution des
10 tumeurs suivie régulièrement. Les souris traitées présentent un retard de la
croissance tumorale jusqu'à J15 par rapport aux contrôles constitués par des
animaux ayant reçu un virus MVA non recombinant. De plus, le traitement
s'accompagne d'une régression partielle des tumeurs à J30-35 qui n'est pas observée
lorsqu'on met en oeuvre un MVA équivalent exprimant les mutants E6* et E7* de
15 localisation nucléaire native.

EXEMPLE 4 : Construction du virus recombinant VVTG5095 exprimant l'antigène
E7* de localisation transmembranaire.

20 Les séquences E7*TMR sont isolées du M13TG9150 par digestion
*Bgl*III/*Bam*HI et insérées au site *Bam*HI du pTG5016. La construction résultante,
dénommée pTG5095, contient les séquences E7* fusionnées aux signaux de
sécrétion et d'ancrage de la glycoprotéine rabique, sous contrôle du promoteur p7.5.
Le virus VVTG5095 est généré par recombinaison homologue avec le génome
25 vaccine.

EXEMPLE 5 : Construction du virus recombinant VVTG6002 exprimant l'antigène
E7* de localisation transmembranaire et l'immunostimulateur
B7.1.

Le gène B7.1 humain est isolé à partir d'une lignée cellulaire humaine Daudi par PCR reverse (RT-PCR) à l'aide des amorces oTG6353 et oTG6352 (SEQ ID NO: 22 et 23) et inséré entre les sites *Bgl*II et *Eco*RI de M13TG6131. On obtient M13TG9149 dont on isole le fragment *Bgl*II-*Eco*RI lequel est sous cloné entre les
5 mêmes sites de M13TG5107, en 3' du promoteur p7.5 (M13TG5107 porte les séquences promotrices p7.5 clonées dans le site *Bam*HI du M13TG130). La cassette p7.5-B7.1 est isolée de la construction ainsi obtenue dénommée M13TG9152 par digestion *Eco*RI/*Pst*I et introduite dans le site *Eco*RI de pTG5095 à l'aide de l'oTG1086 (5'AATTTGCA3'). La construction résultante est dénommée pTG6002
10 et les virus recombinants VVTG6002 sont produits par recombinaison homologue avec le génome de la vaccine.

Une construction équivalente est réalisée par insertion des cassettes d'expression des gènes E7* et B7.1 dans la zone d'excision III du génome MVAN33 selon la même technologie que celle développée à l'exemple 2.

15

EXEMPLE 6 : Efficacité *in vivo* des virus VVTG5095 et VVTG6002 (immunoprophylaxie).

Des souris C57BL6 ont été vaccinées à trois reprises par voie sous-cutanée
20 avec 10^7 pfu de VVTG5095 ou VVTG6002. Trois jours après la dernière immunisation, ces animaux sont éprouvés avec 10^3 cellules E7W1 implantées en sous-cutané. A titre indicatif, les cellules E7W1 proviennent d'une lignée de lymphome murin transfectée par un vecteur exprimant le gène E7 oncogène de HPV-16. Le pourcentage de survie des animaux en fonction du temps est comparé
25 à celui obtenu avec des souris témoins traitées avec 10^7 pfu d'un virus de la vaccine non recombinant VVTG186 (dérivé du vecteur TG186 décrit ci-dessus). Le suivi de la mortalité montre une différence entre les trois groupes. Alors que dans le groupe témoin 100 % des animaux sont morts à J36, on observe la survie d'environ un quart des animaux vaccinés par VVTG5095. La protection est sensiblement améliorée
30 avec la construction VVTG6002 qui inclut les séquences codant pour l'antigène

B7.1.

EXEMPLE 7: Construction de MVATG9936 exprimant les gènes précoces modifiés et les gènes tardifs de HPV16.

5

Les fragments codant pour les protéines L1 et L2 de HPV16 sont isolés par PCR à partir d'ADN génomique de cellules Caski (ATCC 1550) selon les techniques générales de l'art. Le fragment d'amplification portant les séquences L1 est sous cloné dans M13TG130 (Kieny et al., 1983, Gene 26, 91-99), pour donner la
10 construction M13TG8171. La séquence du gène L1 cloné révèle plusieurs mutations par rapport à la séquence contenue dans Genebank (accession K02718) : C à la place d'un A en position 248, C à la place d'un A en position 253, G à la place d'un A en position 537, G à la place d'un C en position 682, G à la place d'un A en position 874, insertion d'un triplet ACT en position 1393, délétion d'un triplet GAT en
15 position 1390. La séquence est corrigée par mutagenèse ponctuelle de manière à la rendre conforme à celle publiée par Zhou et al. (1991, Virology 185, 251-257) et introduire des mutations silencieuses au niveau des séquences TTTTNT qui constituent des sites potentiels de terminaison de la transcription précoce susceptibles d'interférer avec la phase précoce de développement de la vaccine. La
20 technique de mutagenèse dirigée est à la portée de l'homme de l'art. Le vecteur portant la séquence corrigée est désigné M13TG4041.

L'insertion du fragment PCR portant les séquences L2 dans le vecteur M13TG6131 conduit à M13TG9126. On dénombre 5 mutations ponctuelles par rapport à la séquence divulguée dans Genebank : C à la place d'un T en position 378,
25 A à la place d'un G en position 691, A à la place d'un G en position 702, G à la place d'un A en position 990 et C à la place d'un A en position 1092. A titre indicatif, le vecteur M13TG6131 dérive de M13TG131 (Kieny et al., 1983, Gene 26, 91-99) par mutation du site *Bgl*II interne situé en dehors des sites multiples de clonage.

Le vecteur M13TG4041 est digéré par *Xba*I-*Sac*I et le fragment portant les
30 séquences L1 est inséré entre les sites *Xba*I-*Sac*I de M13TG9126 en aval du gène

L2 et en direction opposée. La construction ainsi générée est dénommée M13TG4042. Puis, les séquences L1 et L2 sont isolées par digestion *Bgl*II et sous clonées entre les sites *Bgl*II et *Bam*HI du vecteur M13TG4052 contenant le promoteur synthétique p11K7.5, qui résulte de la fusion des promoteurs tardif p11K et précoce p7.5. Des deux orientations, on sélectionne celle qui place le gène L1 en aval du promoteur, qui est désignée M13TG4055. Puis, la cassette d'expression portant le promoteur pH5R et le gène hIL-2, est isolée de pTG8042 par digestion *Hind*III avant d'être introduite dans le site *Hind*III de M13TG4055 situé entre les gènes L1 et L2. Enfin, la construction obtenue, M13TG4057, est digérée par *Bgl*II et le fragment portant les séquences tardives de HPV16 est inséré dans le site *Bam*HI de M13TG4060, lequel résulte du clonage du promoteur synthétique p4BK1L. Ce dernier est un promoteur hybride entre le promoteur précoce p4B (Davidson et Moss, 1989, J. Mol. Biol. 210, 749-769) et tardif pK1L (Davidson et Moss, 1989, J. Mol. Biol. 210, 771-784). On obtient M13TG4062 qui comprend le gène L1 sous le contrôle de p11K7.5, la cassette pH5R-IL2 et le gène L2 sous le contrôle de p4BK1L en orientation réverse par rapport aux séquences L1.

On construit une cassette polycistronique contenant les séquences codant pour E7*TMR et pour E6*TMF. En premier lieu, les séquences IRES du virus EMC (encephalomyocardiovirus ; Genbank accession M22458) sont isolées par les techniques conventionnelles sous forme d'un fragment *Eco*RI-*Nco*I introduit en aval du gène E7*TMR entre les sites *Eco*RI et *Nco*I de pTG6002 (exemple 5), pour donner pTG8084. Puis le gène E6*TMF est amplifié par PCR à l'aide d'amorces appropriées créant un site *Nco*I à son extrémité 5'. Le fragment *Bgl*II-*Nco*I portant le gène E7*TMR et les séquences IRES obtenu de pTG8084 et le fragment PCR portant le gène E6*TMF digéré par *Nco*I et *Sac*I sont réassemblés dans le vecteur M13TG6131 (exemple 2) préalablement digéré par *Bgl*II et *Sac*I. On obtient M13TG4059. Puis le bloc E7*TMR-IRES-E6*TMF est isolé de ce dernier sous forme d'un fragment *Bgl*II et inséré dans le site *Bam*HI de pTG8093 en aval du promoteur p7.5K. (pTG8093 résulte du clonage du promoteur p7.5K dans le vecteur pTG6025. La construction ainsi obtenue est désignée pTG9901.

Le fragment *SacI* de M13TG4062 est cloné dans le site *SacI* de pTG9901, pour donner pTG9902. Le gène de sélection *gpt* (Falkner et Moss, 1988, J. Virol. 62, 1849-1854) est assemblé avec les gènes tardifs et IL2 dans le vecteur p poly II (Lathe et al., 1987, Gene 57, 193-201) de la façon suivante. Le premier est isolé de
5 M13TG4076 (ce vecteur contient le gène *gpt* flanqué à ses deux extrémités des séquences promotrices p4BK1L) par digestion *BglII-NcoI* et les seconds de pTG9902 par digestion *NcoI-SacI*. Les fragments purifiés sont clonés entre les sites *BglII-SacI* de p poly II. On obtient pTG9933 duquel on isole le fragment *SacI* qui est introduit dans le vecteur pTG9901 clivé par *SacI*. La construction ainsi obtenue
10 pTG9936 est illustrée à la Figure 2.

Les virus MVATG9936 sont générés par recombinaison homologue avec le génome MVAN33. L'isolement de clones peut être réalisé selon les règles de l'art.

EXEMPLE 8: Efficacité des virus en immunoprophylaxie.

15

A. Importance de la formulation des virus (expérience N121)

Le but de cette étude préclinique est de comparer la souche virale (virus de la vaccine Copenhagen contre MVA) et la formulation (présentation
20 transmembranaire contre localisation nucléaire native) en terme de protection anti-tumorale.

Des souris C57Bl6 sont vaccinées à trois reprises avec 10^7 pfu de virus. Les injections sont faites tous les dix jours (J1, J11 et J21) par voie intrapéritonéale. Les animaux sont éprouvés 7 jours après la dernière immunisation par administration
25 sous-cutanée dans leur flanc droit de 5×10^4 cellules TC1. Huit groupes de 20 animaux sont constitués en fonction du virus ou de la solution administré, respectivement :

- 1 MVATG8042 (exemple 2, E6*TMF, E7*TMR, IL-2),
- 2 MVATG6037 (exemple 5, E7*TMR, B7.1),
- 30 3 VVTG5095 (exemple 4, E7*TMR),

- 4 MVATG6090 (E6*, E7*, IL-2),
- 5 VVTG5061x188 (E6*, E7*, IL-2),
- 6 VVTG186 (virus de la vaccine non recombinant),
- 7 MVAN33 (virus MVA non recombinant), et
- 5 8 une solution saline (PBS).

Les groupes 1 à 3 sont vaccinés avec les virus de la présente invention exprimant au moins un antigène HPV transmembranaire alors que les groupes 4 et 5 ont reçu des virus exprimant les antigènes précoces de HPV16 de localisation nucléaire native et les groupes 6 à 8 des virus contrôles non recombinants ou une
10 solution saline. On indique que les virus MVATG6090 et VVTG5061x188 sont décrits dans la demande internationale WO98/04705. Le pourcentage de survie des animaux des différents groupes est suivi pendant les 12 semaines qui suivent l'épreuve tumorale. Les résultats peuvent être résumés de la façon suivante.

D'une manière générale, la mortalité est importante dans les trois groupes
15 témoins atteignant 95% (avec les virus MVAN33 et VV186) et 81% (avec le PBS).

On observe un accroissement significatif de la survie des animaux immunisés avec les virus exprimant les antigènes nucléaires de HPV. Ainsi, 55% des souris ayant reçu le virus MVATG6090 sont libres de tumeurs alors que l'administration de VVTG5061x188 induit un taux de réjection tumorale de 75%.

20 En revanche, la grande majorité des animaux vaccinés avec les virus exprimant les antigènes transmembranaires de HPV16 ont rejetés leur tumeur ou présentent un retard de croissance tumorale important. Plus précisément, on observe 100% de rejection avec MVATG8042, 95% avec MVATG6037 et 90% avec VVTG5095.

25 La Figure 3 présente les courbes de survie obtenues avec les animaux vaccinés avec MVATG8042 et MVATG6090 par rapport aux contrôles (MVAN33 et PBS).

Dans leur ensemble, ces données mettent en évidence l'absence de différence significative entre les virus issus d'un virus de la vaccine Copenhagen et d'un MVA
30 et la meilleure immunogénécité conférée par la présentation membranaire. De tous

les virus testés, le virus MVATG8042 est le plus efficace puisqu'il donne lieu à 100% de réjection tumorale dans ce modèle animal d'immunoprophylaxie.

B. Etude de la réponse mémoire (expérience N122)

5

Les souris C57Bl6 sont immunisées par voie intrapéritonéale avec 10^7 pfu de virus à J1, J11 et J21 avant d'être éprouvées à J82 par administration sous-cutanée dans leur flanc droit de 5×10^4 cellules TC1. Huit groupes identiques à l'expérience précédente (N121) sont constitués. L'évolution des tumeurs est suivie en fonction du temps. Les données obtenues 50 jours après l'épreuve tumorale confirment que le virus le plus efficace en terme de réjection tumorale est le virus MVATG8042. Son administration protège 100% des animaux, indiquant sa capacité à induire une immunité à long terme.

15

C. Effet de dose (expérience N127).

Les souris C57Bl6 sont immunisées par voie intrapéritonéale à J1, J11 et J21 avec 10^5 , 10^6 ou 10^7 pfu de virus MVATG8042 avant d'être éprouvées à J28 par administration sous-cutanée dans leur flanc droit de 5×10^4 cellules TC1. Les animaux contrôles reçoivent des quantités identiques de MVAN33. L'évolution des tumeurs est suivie deux fois par semaine pendant 12 semaines. Les résultats (Figure 4) montrent 100% de protection quelle que soit la dose de MVATG8042 administrée alors que la grande majorité des animaux témoins développent des tumeurs. Ces données confirment l'efficacité du virus MVATG8042 même à faible dose.

D. Effet de la voie d'administration (expérience N134).

Les souris C57Bl6 sont immunisées par différentes routes d'administration

(scarification, sous-cutanée, intrapéritonéale ou intramusculaire) à J1, J11 et J21 avec 10^7 pfu de virus avant d'être éprouvées à J44 par administration sous-cutanée dans leur flanc droit de 5×10^4 cellules TC1. L'évolution des tumeurs est suivie deux fois par semaine pendant 12 semaines. Comme montré à la Figure 5, les voies intrapéritonéale ou intramusculaire donnent les taux de protection les plus élevés avec le virus MVATG8042.

EXEMPLE 9: Efficacité des virus en immunothérapie.

10 A. *Efficacité des virus dans un contexte d'immunothérapie (expérience N125).*

Le but de cette étude est de comparer les capacités thérapeutiques à l'égard d'une tumeur préétablie des virus présentant les antigènes HPV sous une forme membranaire ou nucléaire. Pour ce faire, 5×10^4 cellules TC1 sont administrées par voie sous-cutanée dans le flanc droit des souris C57Bl6 (J0). Puis, 10^7 pfu de virus sont injectés par voie intrapéritonéale à J7, J14 et J21. Quatre groupes d'animaux sont constitués selon le virus administré : respectivement MVAN33 (contrôle négatif), une solution saline de Tris-HCl/NaCl (contrôle négatif), MVATG8042 (formulation transmembranaire) et MVATG6090 (formulation nucléaire). L'évolution des tumeurs est évaluée deux fois par semaine pendant 12 semaines. Les résultats montrent une meilleure efficacité de la présentation membranaire en terme de protection anti-tumorale dans un contexte thérapeutique. 100% des souris ayant reçu MVATG8042 ont survécu 140 jours après l'implantation des cellules tumorales alors que le pourcentage est d'environ 60% pour les animaux injectés avec MVATG6090 et bien inférieur pour les animaux contrôles.

B. *Etudes de toxicité - Effet de la dose.*

Il est important de vérifier l'absence de virulence des virus avant d'envisager

leur application aux tumeurs humaines. On administre à des souris nude (5 animaux/groupe) 10^6 ou 10^7 pfu de virus MVATG8042, MVAN33 ou un virus de la vaccine Copenhagen sauvage (VVwt) par voie intracraniale. La survie des souris est suivie pendant 20 jours.

5 et les résultats présentés dans le tableau 1 suivant

Tableau 1

virus	Nombre de souris nude survivantes	
	10^6 pfu	10^7 pfu
MVAN33	5/5	5/5
MVATG8042	5/5	5/5
VVwt	-	0/5

Aucun effet secondaire n'est détecté suite à l'administration intracraniale de
10 10^7 pfu du virus MVATG8042 alors que toutes les souris traitées avec le virus de la vaccine sauvage sont mortes trois jours après l'injection. Le virus MVA contrôle n'est pas non plus toxique pour les animaux, ce qui confirme son atténuation par rapport au virus de la vaccine déjà décrite dans la littérature.

Revendications

1. Composition antitumorale comprenant à titre d'agent thérapeutique ou prophylactique un ou plusieurs polypeptide(s) immunogène(s), caractérisée en ce
5 que l'un au moins desdits polypeptides est modifié de manière à présenter une localisation différente de sa localisation native.
2. Composition antitumorale selon la revendication 1, caractérisée en ce que la modification du polypeptide est obtenue par l'introduction de signaux de
10 localisation appropriés et/ou la délétion ou l'inactivation des signaux de localisation natifs.
3. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 ou 2, dans laquelle le polypeptide immunogène ayant naturellement une localisation non membranaire,
15 notamment nucléaire, est modifié de manière à présenter une localisation membranaire.
4. Composition antitumorale selon la revendication 3, dans laquelle le polypeptide immunogène est modifié par insertion d'une séquence d'ancrage membranaire et,
20 le cas échéant, d'une séquence de sécrétion.
5. Composition selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que le polypeptide est délété de sa séquence de localisation nucléaire.
- 25 6. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 5, dans laquelle la séquence de sécrétion et/ou d'ancrage membranaire est sélectionnée parmi le groupe constitué par celle de la glycoprotéine rabique, de la glycoprotéine env du virus HIV et de la protéine F du virus de la rougeole.
- 30 7. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1, 2 ou 5, dans laquelle

le polypeptide immunogène est modifié de manière à présenter une localisation cytoplasmique, notamment par mutation/délétion des signaux de localisation natifs.

- 5 8. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1, 2 ou 5, dans laquelle le polypeptide immunogène est modifié par insertion, notamment à son extrémité C-terminale d'une séquence permettant une localisation dans un compartiment cellulaire particulier.
- 10 9. Composition antitumorale selon la revendication 8, dans laquelle le polypeptide immunogène est modifié par insertion, notamment à son extrémité C-terminale d'une séquence d'endocytose et, en particulier, de la séquence IPNYRNM.
- 15 10. Composition antitumorale selon la revendication 8, dans laquelle le polypeptide immunogène est modifié par insertion, notamment à son extrémité C-terminale d'une séquence permettant un ancrage dans la membrane de l'appareil de Golgi.
- 20 11. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 10, dans laquelle le polypeptide immunogène est originaire d'une région précoce et/ou tardive d'un papillomavirus et, notamment d'un papillomavirus humain (HPV) de type 16, 18, 31, 33 ou 45.
- 25 12. Composition antitumorale selon la revendication 11, dans laquelle le polypeptide immunogène dérive d'un polypeptide de la région précoce d'un papillomavirus et, notamment de E6 ou E7.
- 30 13. Composition antitumorale selon la revendication 12, dans laquelle le polypeptide immunogène dérive d'un variant non oncogène dudit polypeptide E6 ou E7 d'un papillomavirus.

14. Composition antitumorale selon la revendication 11, dans laquelle le polypeptide immunogène dérive du polypeptide L1 ou L2 d'un papillomavirus.
15. Composition antitumorale selon l'une des revendications 11 à 14, comprenant au moins un polypeptide immunogène dérivant d'un polypeptide précoce et au moins un polypeptide immunogène dérivant d'un polypeptide tardif d'un papillomavirus.
16. Composition antitumorale selon l'une des revendications 11 à 15, comprenant:
- (1) un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1,
 - (2) un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2,
 - (3) un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1 et un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2,
 - (4) un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1, un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus,
 - (5) un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2, un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus, ou
 - (6) un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1, un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2, un

polypeptide immunogène dérivant de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus.

- 5 17. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 16, comprenant en outre au moins un composé améliorant l'effet antitumoral de ladite composition.
18. Composition antitumorale selon la revendication 17, dans laquelle ledit composé est un immunostimulateur.
- 10 19. Composition antitumorale selon la revendication 18, dans laquelle ledit composé immunostimulateur est sélectionné parmi le groupe constitué par l'interleukine-2, l'interleukine-7, l'interleukine-12 et les molécules de co-adhésion B7.1 et B7.2.
- 15 20. Composition antitumorale qui comprend à titre d'agent thérapeutique ou prophylactique au moins un vecteur recombinant comprenant les séquences codant pour un ou plusieurs polypeptide(s) immunogène(s), l'un au moins desdits polypeptides étant modifié de manière à présenter une localisation différente de sa localisation native et, éventuellement, pour un composé améliorant l'effet
- 20 antitumoral de ladite composition.
21. Composition antitumorale selon la revendication 20, dans laquelle lesdits polypeptides immunogènes et améliorant l'effet antitumoral ont les caractéristiques telles que définies à l'une quelconque des revendications 1 à 19.
- 25 22. Composition antitumorale selon la revendication 20 ou 21, dans laquelle le vecteur recombinant dérive d'un poxvirus et notamment d'un virus de la vaccine, d'un canaripox et d'un fowlpox.
- 30 23. Composition antitumorale selon la revendication 22, dans laquelle le vecteur

recombinant dérive d'un virus de la vaccine sélectionné parmi les souches Copenhague, Wyeth et Ankara modifiée (MVA).

24. Composition antitumorale selon la revendication 23, dans laquelle le vecteur
5 recombinant dérive d'un virus de la vaccine de la souche Copenhague et les
séquences codant pour le ou lesdits polypeptides sont insérées au niveau du locus
TK et/ou K1L dudit virus de la vaccine.
25. Composition antitumorale selon la revendication 23, dans laquelle le vecteur
10 recombinant dérive d'un virus de la vaccine de la souche MVA et les séquences
codant pour le ou lesdits polypeptides sont insérées au niveau de l'une au moins
des zones d'excision I à VI dudit virus de la vaccine et, notamment II et/ou III.
26. Composition antitumorale selon l'une des revendications 22 à 25, dans laquelle les
15 séquences codant pour le ou lesdits polypeptides sont placées sous le contrôle
d'un promoteur d'un gène d'un virus de la vaccine et, notamment d'un promoteur
sélectionné parmi les promoteurs des gènes thymidine kinase (TK), 7,5K, H5R
p28, p11 et K1L.
- 20 27. Composition antitumorale selon l'une des revendications 22 à 26, destinée au
traitement ou la prévention d'une infection ou tumeur à papillomavirus,
comprenant au moins un vecteur recombinant dérivé d'un virus de la vaccine de
la souche Copenhague ou MVA dans lequel sont insérées :
- 25 (1) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une
séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée
dans la SEQ ID NO: 1,
- (2) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une
séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée
dans la SEQ ID NO: 2,
- 30 (3) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une

- séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1 et pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2,
- 5 (4) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1, pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus,
- 10 (5) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2, pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus, ou
- 15 (6) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1, pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2, pour un polypeptide immunogène dérivant de
- 20 la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus.
28. Composition antitumorale selon la revendication 27, comprenant en outre les séquences codant pour un composé immunostimulateur, de préférence, choisi
- 25 parmi L'IL-2 ou B7.1.
29. Composition antitumorale selon l'une des revendications 20 à 28, dans laquelle le vecteur recombinant est vivant ou tué.
- 30 30. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 29, comportant un

support acceptable d'un point de vue pharmaceutique permettant son administration par injection à l'homme ou à l'animal.

31. Vecteur recombinant comprenant au moins les séquences codant pour un polypeptide immunogène originaire d'une région précoce et/ou tardive d'un papillomavirus, ledit polypeptide ayant les caractéristiques définies aux revendications 11 à 16.
32. Vecteur recombinant selon la revendication 31, comprenant en outre une ou plusieurs séquences codant pour un polypeptide d'intérêt, notamment un polypeptide immunogène et/ou un polypeptide immunostimulateur.
33. Vecteur recombinant selon la revendication 31 ou 32, dérivant d'un vecteur plasmidique ou viral, notamment d'un poxvirus et en particulier d'un virus de la vaccine de la souche Copenhagen ou MVA.
34. Vecteur recombinant selon la revendication 33, dérivant d'un virus de la vaccine de la souche Copenhagen ou MVA dans lesquels sont insérées :
- (1) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1,
 - (2) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2,
 - (3) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1 et pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2,
 - (4) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une

- séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1, pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus,
- 5 (5) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2, pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus, ou
- 10 (6) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1, pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2, pour un polypeptide immunogène dérivant de
- 15 la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus.

35. Particule virale comprenant un vecteur recombinant selon l'une des revendications 31 à 34.
- 20
36. Particule virale selon la revendication 35, dans laquelle ledit polypeptide immunogène est ancré dans la structure protéique entourant ladite particule virale.
37. Utilisation d'une composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 30,
- 25 d'un vecteur recombinant selon l'une des revendications 31 à 34 ou d'une particule virale selon la revendication 35 ou 36, pour la préparation d'un médicament destiné au traitement ou à la prévention d'un cancer ou d'une tumeur.
38. Utilisation selon la revendication 37, pour la préparation d'un médicament destiné
- 30 au traitement ou à la prévention d'un cancer du col de l'utérus, d'une dysplasie du

col de bas grade et d'une infection à papillomavirus.

39. Utilisation selon la revendication 37 ou 38, pour la préparation d'un médicament injectable par la voie intramusculaire.

1/5

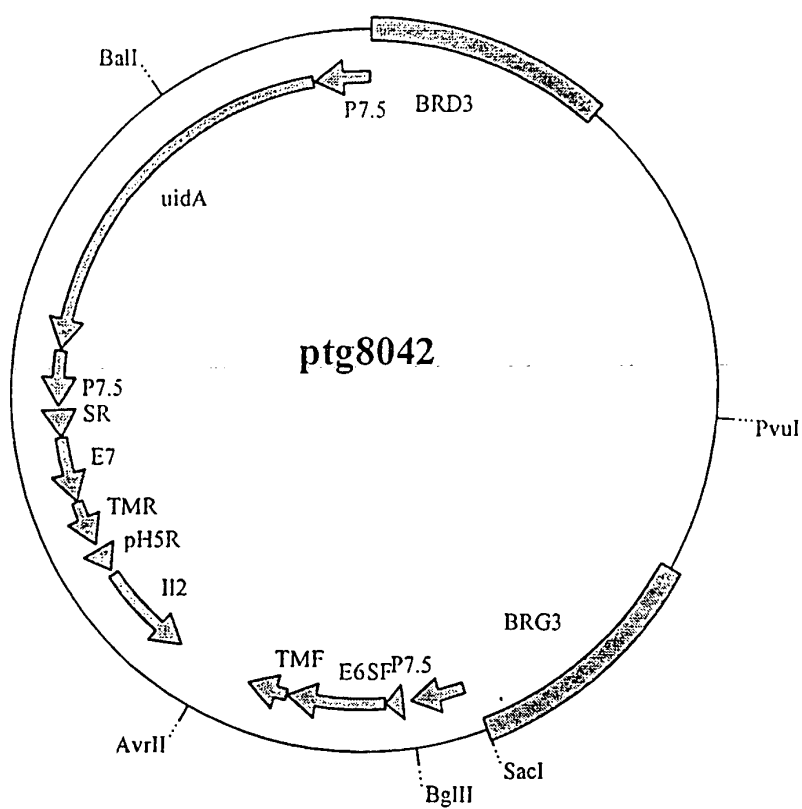


Figure 1

2/5

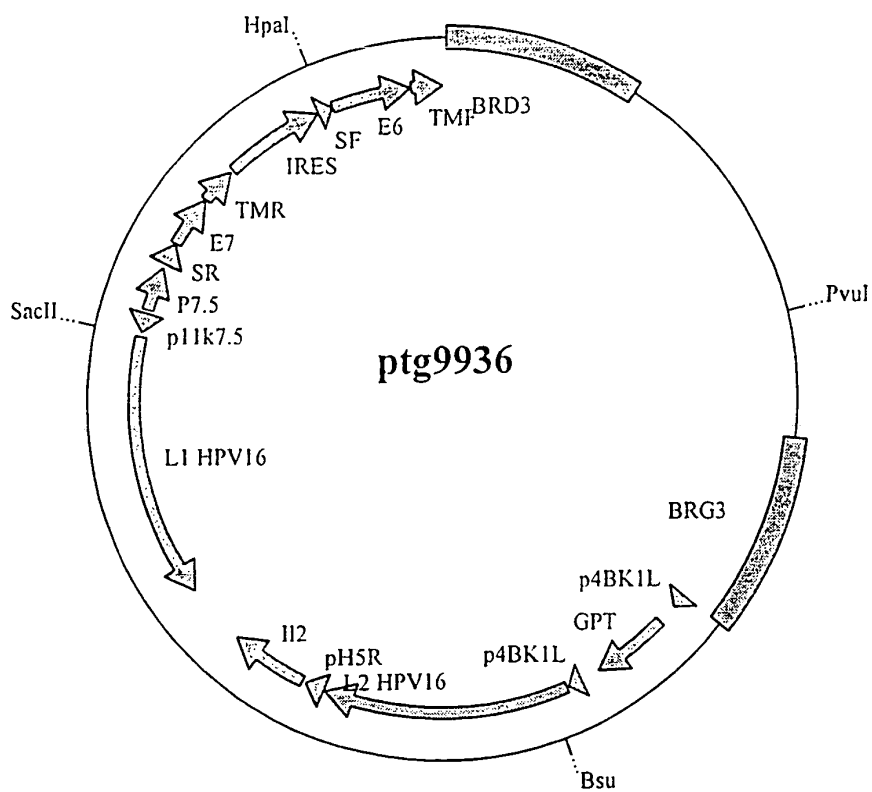


Figure 2

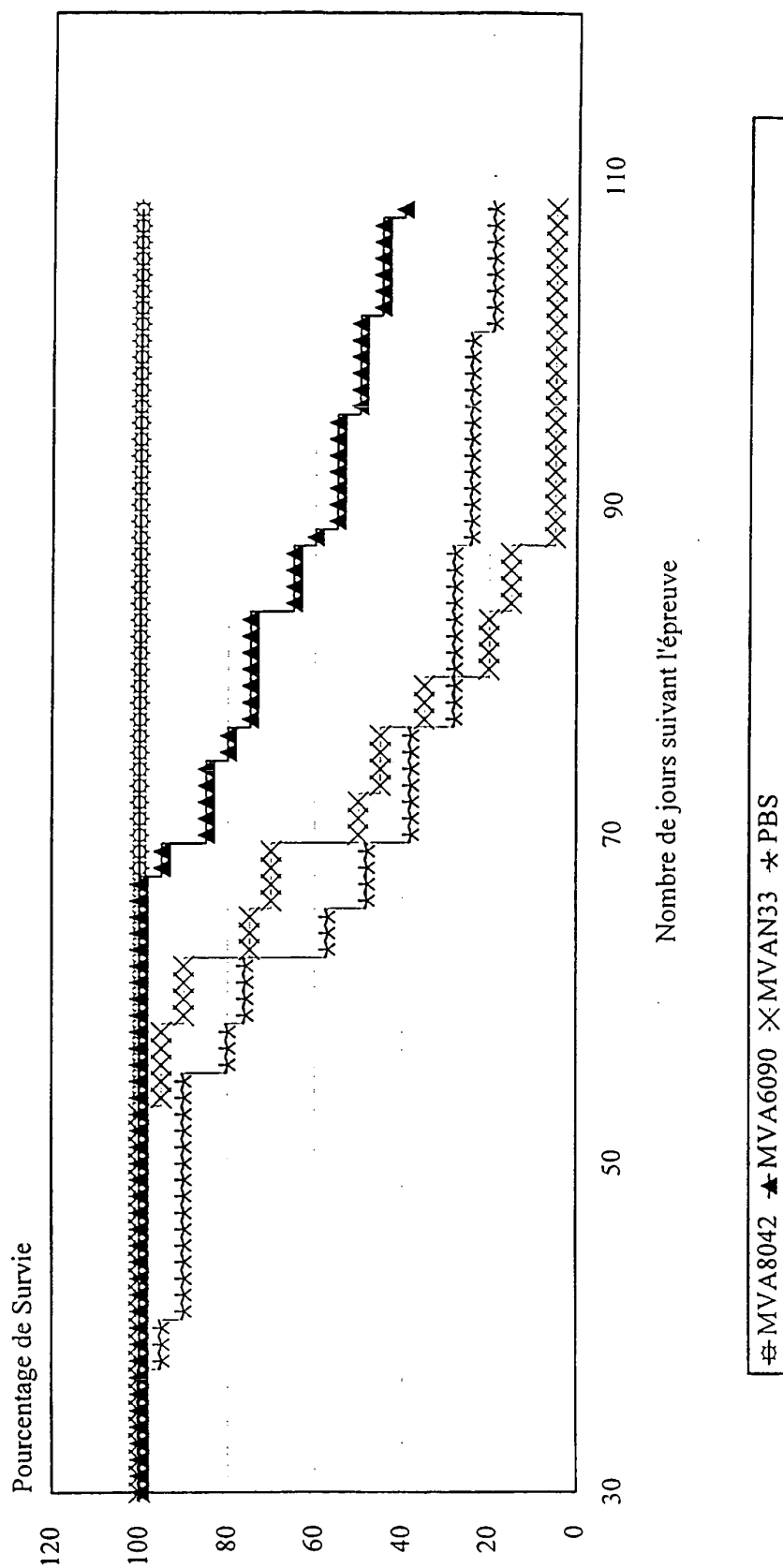


Figure 3

4/5

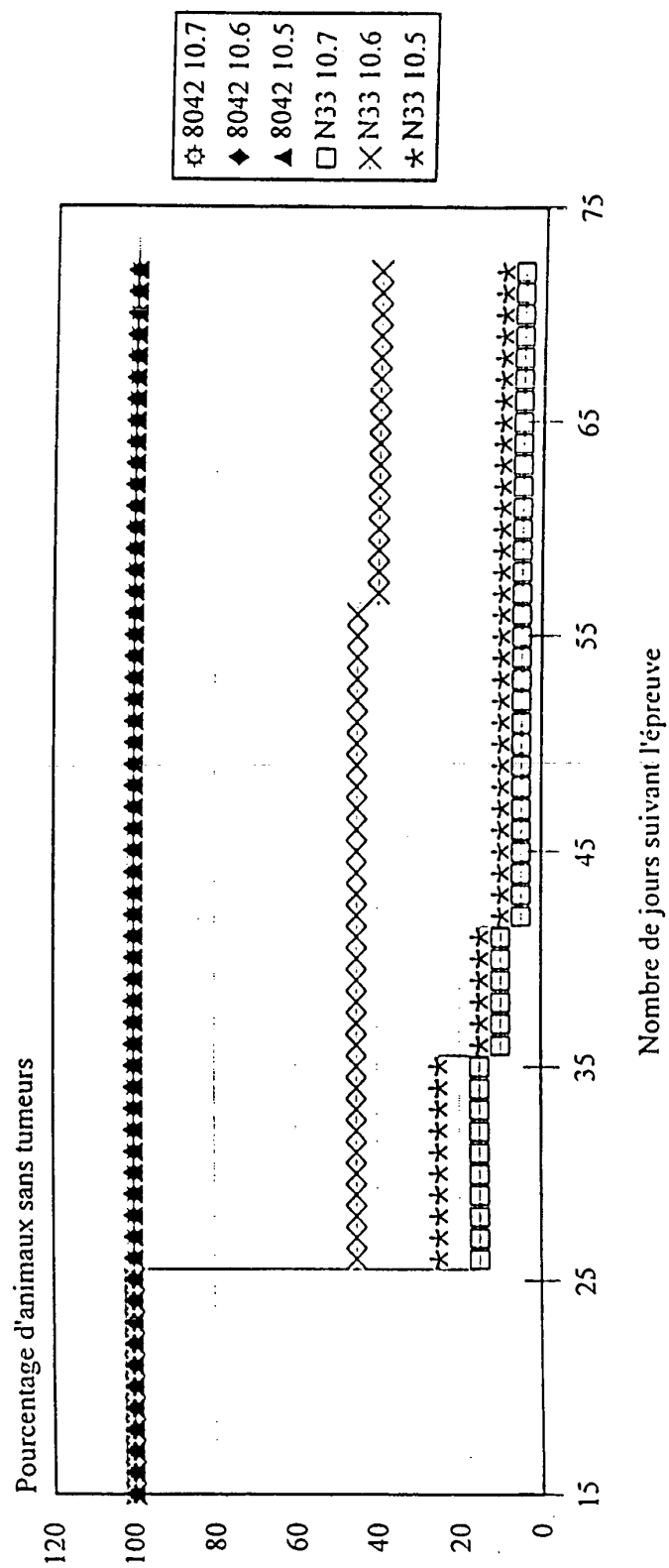


Figure 4

5/5

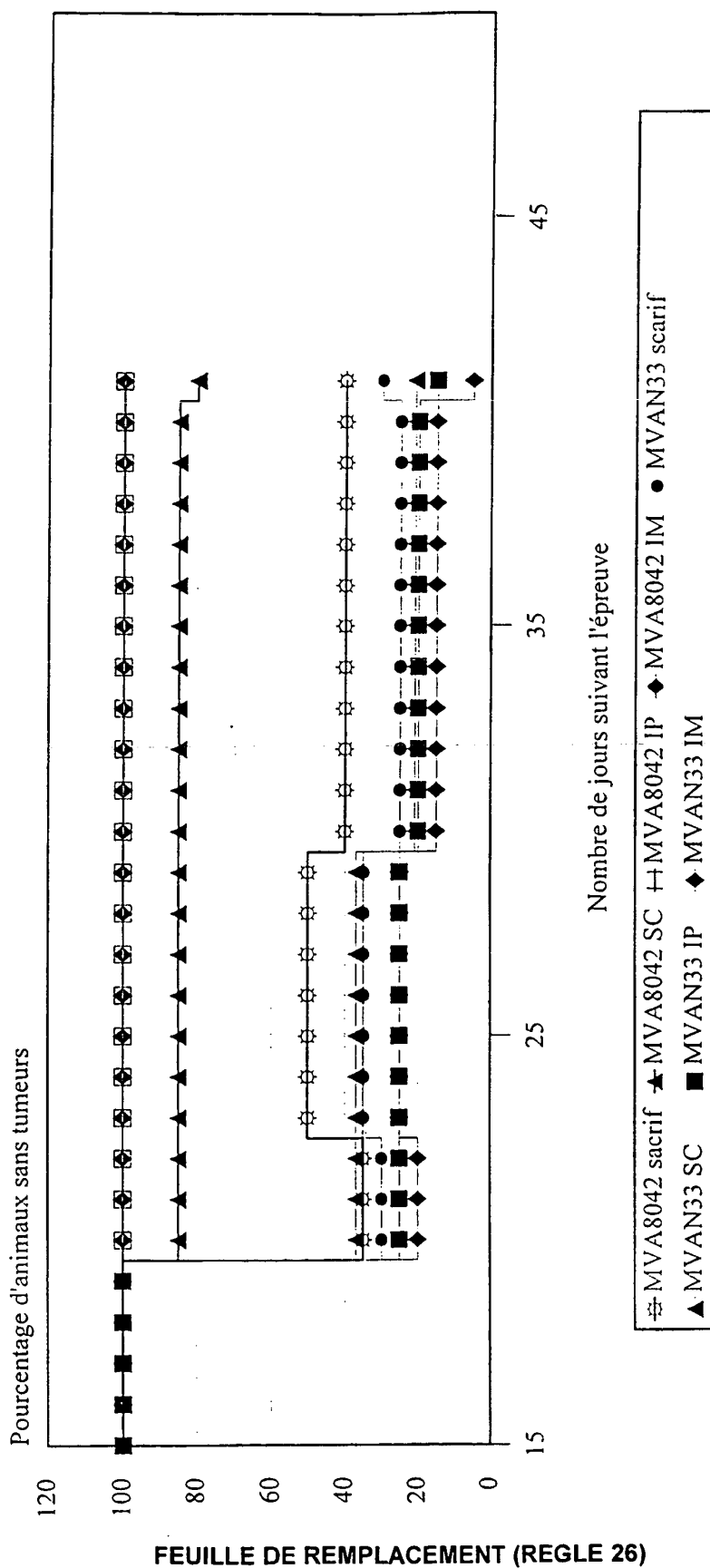


Figure 5

LISTE DE SEQUENCES

(1) INFORMATION GENERALE:

(i) DEPOSANT:

(A) NOM: Transgene SA
 (B) RUE: 11 rue de Molsheim
 (C) VILLE: Strasbourg
 (E) PAYS: France
 (F) CODE POSTAL: 67082
 (G) TELEPHONE: (33) 03 88 27 91 00
 (H) TELECOPIE: (33) 03 88 27 91 11

(ii) TITRE DE L' INVENTION: composition antitumorale a base de polypeptide immunogene de localisation cellulaire modifiée.

(iii) NOMBRE DE SEQUENCES: 23

(iv) FORME LISIBLE PAR ORDINATEUR:

(A) TYPE DE SUPPORT: Tape
 (B) ORDINATEUR: IBM PC compatible
 (C) SYSTEME D' EXPLOITATION: PC-DOS/MS-DOS
 (D) LOGICIEL: PatentIn Release #1.0, Version #1.25 (OEB)

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 1:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 243 acides aminés
 (B) TYPE: acide aminé
 (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: protéine

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(vi) ORIGINE:

(A) ORGANISME: Human papillomavirus
 (B) SOUCHE: HPV-16
 (C) INDIVIDUEL ISOLE: proteine E6 fusionnee signaux de la proteine F

(vii) SOURCE IMMEDIATE:

(B) CLONE: E6*TMF

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 1:

Met Gly Leu Lys Val Asn Val Ser Ala Ile Phe Met Ala Val Leu Leu
 1 5 10 15

Thr Leu Gln Thr Pro Thr Gly Gln Ile His Trp Gly Met His Gln Lys
 20 25 30

Arg Thr Ala Met Phe Gln Asp Pro Gln Glu Arg Pro Arg Lys Leu Pro
 35 40 45

Gln Leu Cys Thr Glu Leu Gln Thr Thr Ile His Asp Ile Ile Leu Glu
 50 55 60

2

Cys Val Tyr Cys Lys Gln Gln Leu Leu Arg Arg Glu Val Tyr Asp Phe
 65 70 75 80
 Ala Phe Arg Asp Leu Cys Ile Val Tyr Arg Asp Gly Asn Pro Tyr Ala
 85 90 95
 Val Cys Asp Lys Cys Leu Lys Phe Tyr Ser Lys Ile Ser Glu Tyr Arg
 100 105 110
 His Tyr Cys Tyr Ser Leu Tyr Gly Thr Thr Leu Glu Gln Gln Tyr Asn
 115 120 125
 Lys Pro Leu Cys Asp Leu Leu Ile Arg Cys Ile Asn Cys Gln Lys Pro
 130 135 140
 Leu Gln Arg His Leu Asp Lys Lys Gln Arg Phe His Asn Ile Arg Gly
 145 150 155 160
 Arg Trp Thr Gly Arg Cys Met Ser Cys Cys Arg Ser Ser Arg Thr Arg
 165 170 175
 Arg Glu Thr Gln Leu Gly Leu Ser Ser Thr Ser Ile Val Tyr Ile Leu
 180 185 190
 Ile Ala Val Cys Leu Gly Gly Leu Ile Gly Ile Pro Ala Leu Ile Cys
 195 200 205
 Cys Cys Arg Gly Arg Cys Asn Lys Lys Gly Glu Gln Val Gly Met Ser
 210 215 220
 Arg Pro Gly Leu Lys Pro Asp Leu Thr Gly Thr Ser Lys Ser Tyr Val
 225 230 235 240
 Arg Ser Leu

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 2:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 185 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: protéine

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(vi) ORIGINE:

- (A) ORGANISME: human Papillomavirus
- (B) SOUCHE: HPV-16
- (C) INDIVIDUEL ISOLE: E7 fusionne signaux de la glycoprotéine rabique

(vii) SOURCE IMMEDIATE:

- (B) CLONE: E7*TMR

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 2:

Met Val Pro Gln Ala Leu Leu Phe Val Pro Leu Leu Val Phe Pro Leu
 1 5 10 15
 Cys Phe Gly Lys Phe Pro Ile Gly Ser Met His Gly Asp Thr Pro Thr
 20 25 30

3

Leu His Glu Tyr Met Leu Asp Leu Gln Pro Glu Thr Thr Gln Leu Asn
 35 40 45
 Asp Ser Ser Glu Glu Glu Asp Glu Ile Asp Gly Pro Ala Gly Gln Ala
 50 55 60
 Glu Pro Asp Arg Ala His Tyr Asn Ile Val Thr Phe Cys Cys Lys Cys
 65 70 75 80
 Asp Ser Thr Leu Arg Leu Cys Val Gln Ser Thr His Val Asp Ile Arg
 85 90 95
 Thr Leu Glu Asp Leu Leu Met Gly Thr Leu Gly Ile Val Cys Pro Ile
 100 105 110
 Cys Ser Gln Lys Pro Arg Ser Tyr Val Leu Leu Ser Ala Gly Ala Leu
 115 120 125
 Thr Ala Leu Met Leu Ile Ile Phe Leu Met Thr Cys Cys Arg Arg Val
 130 135 140
 Asn Arg Ser Glu Pro Thr Gln His Asn Leu Arg Gly Thr Gly Arg Glu
 145 150 155 160
 Val Ser Val Thr Pro Gln Ser Gly Lys Ile Ile Ser Ser Trp Glu Ser
 165 170 175
 His Lys Ser Gly Gly Glu Thr Arg Leu
 180 185

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 3:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 36 paires de bases
- (B) TYPE: acide nucléique
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: OUI

(vi) ORIGINE:

- (A) ORGANISME: Human Papillomavirus
- (B) SOUCHE: HPV-16
- (C) INDIVIDUEL ISOLE: oligonucleotide de synthese oTG5118
(E7 delete 21 26)

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 3:

TCTGAGCTGT CATTAAATTG AGTTGTCTCT GGTTCG

36

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 4:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 42 paires de bases
- (B) TYPE: acide nucléique
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

4

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: NON

(vi) ORIGINE:

(A) ORGANISME: Rabies virus

(C) INDIVIDUEL ISOLE: oligonucleotide de mutagenese
oTG5745

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 4:

TGCACTCAGT AATACATAGG ATCCAATAGG GAATTTCCCA AA

42

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 5:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 38 paires de bases

(B) TYPE: acide nucléique

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: OUI

(vi) ORIGINE:

(C) INDIVIDUEL ISOLE: oligonucleotide de synthese oTG6390

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 5:

GSTATCTCCAT GCATGGATCC TGCAGGGTTT CTCTACGT

38

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 6:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 36 paires de bases

(B) TYPE: acide nucléique

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: OUI

(vi) ORIGINE:

(C) INDIVIDUEL ISOLE: oligonucleotide de synthese oTG6880

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 6:

GGATCCGCCA TGGTAGATCT TGGTTTCTGA GAACAG

36

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 7:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 32 paires de bases

5

- (B) TYPE: acide nucléique
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: OUI

(vi) ORIGINE:

- (A) ORGANISME: Rabies virus
- (B) SOUCHE: HPV-16
- (C) INDIVIDUEL ISOLE: oligonucleotide de synthese oTG5377
(E6 delete 111 a 115)

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 7:

TGTCCAGATG TCTTTCAGT GGCTTTTGAC AG

32

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 8:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 34 paires de bases
- (B) TYPE: acide nucléique
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: NON

(vi) ORIGINE:

- (B) SOUCHE: oligonucleotide de synthese oTG10829

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 8:

GCGCGCTCTA GAATTATGGG TCTCAAGGTG AACG

34

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 9:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 35 paires de bases
- (B) TYPE: acide nucléique
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: OUI

(vi) ORIGINE:

- (B) SOUCHE: oligonucleotide de synthese oTG10830

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 9:

CAGTTCTCTT TTGGTGCATG CCCCAATGGA TTTGA

35

6

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 10:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 38 paires de bases
- (B) TYPE: acide nucléique
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: NON

(vi) ORIGINE:

(B) SOUCHE: oligonucleotide de synthese oTG10835

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 10:

ATGCTAGTGC TCGATAAACC CAGCTGGGTT TCTCTACG

38

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 11:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 35 paires de bases
- (B) TYPE: acide nucléique
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: OUI

(vi) ORIGINE:

(B) SOUCHE: oligonucleotide de synthese oTG10836

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 11:

TCAAATCCAT TGGGGCATGC ACCAAAAGAG AACTG

35

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 12:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 38 paires de bases
- (B) TYPE: acide nucléique
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: NON

(vi) ORIGINE:

(C) INDIVIDUEL ISOLE: oligonucleotide de synthese oTG10833

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 12:

CGTAGAGAAA CCCAGCTGGG TTTATCGAGC ACTAGCAT

38

7

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 13:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 36 paires de bases
- (B) TYPE: acide nucléique
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: OUI

(vi) ORIGINE:

- (C) INDIVIDUEL ISOLE: oligonucleotide de synthese oTG10834

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 13:

GCGGGCATGC GGTACCTCAG AGCGACCTTA CATAGG

36

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 14:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 32 paires de bases
- (B) TYPE: acide nucléique
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: NON

(vi) ORIGINE:

- (A) ORGANISME: Vaccinia virus
- (B) SOUCHE: Ankara modifie
- (C) INDIVIDUEL ISOLE: oligonucleotide de synthese oTG7637
(PCR zone III)

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 14:

GGGGGGAAT TCAGTAACT TGACTAAATC TT

32

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 15:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 39 paires de bases
- (B) TYPE: acide nucléique
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: OUI

(vi) ORIGINE:

- (A) ORGANISME: Vaccinia virus

8

- (B) SOUCHE: Ankara modifie
- (C) INDIVIDUEL ISOLE: oligonucleotide de synthese oTG7638
(PCR zone III)

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 15:

GGGGGGGGAT CCGAGCTCAC CAGCCACCGA AAGAGCAAT

39

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 16:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 32 paires de bases
 - (B) TYPE: acide nucléique
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire
- (ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)
- (iii) HYPOTHETIQUE: NON
- (iii) ANTI-SENS: NON
- (vi) ORIGINE:
 - (A) ORGANISME: Vaccinia virus
 - (B) SOUCHE: Ankara modifie
 - (C) INDIVIDUEL ISOLE: oligonucleotide de synthese oTG7635
(PCR zone III)

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 16:

GGGGGGGGAT CCGGAAAGTT TTATAGGTAG TT

32

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 17:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 30 paires de bases
 - (B) TYPE: acide nucléique
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire
- (ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)
- (iii) HYPOTHETIQUE: NON
- (iii) ANTI-SENS: OUI
- (vi) ORIGINE:
 - (A) ORGANISME: Vaccinia virus
 - (B) SOUCHE: Ankara modifie
 - (C) INDIVIDUEL ISOLE: oligonucleotide de synthese oTG7636
(PCR zone III)

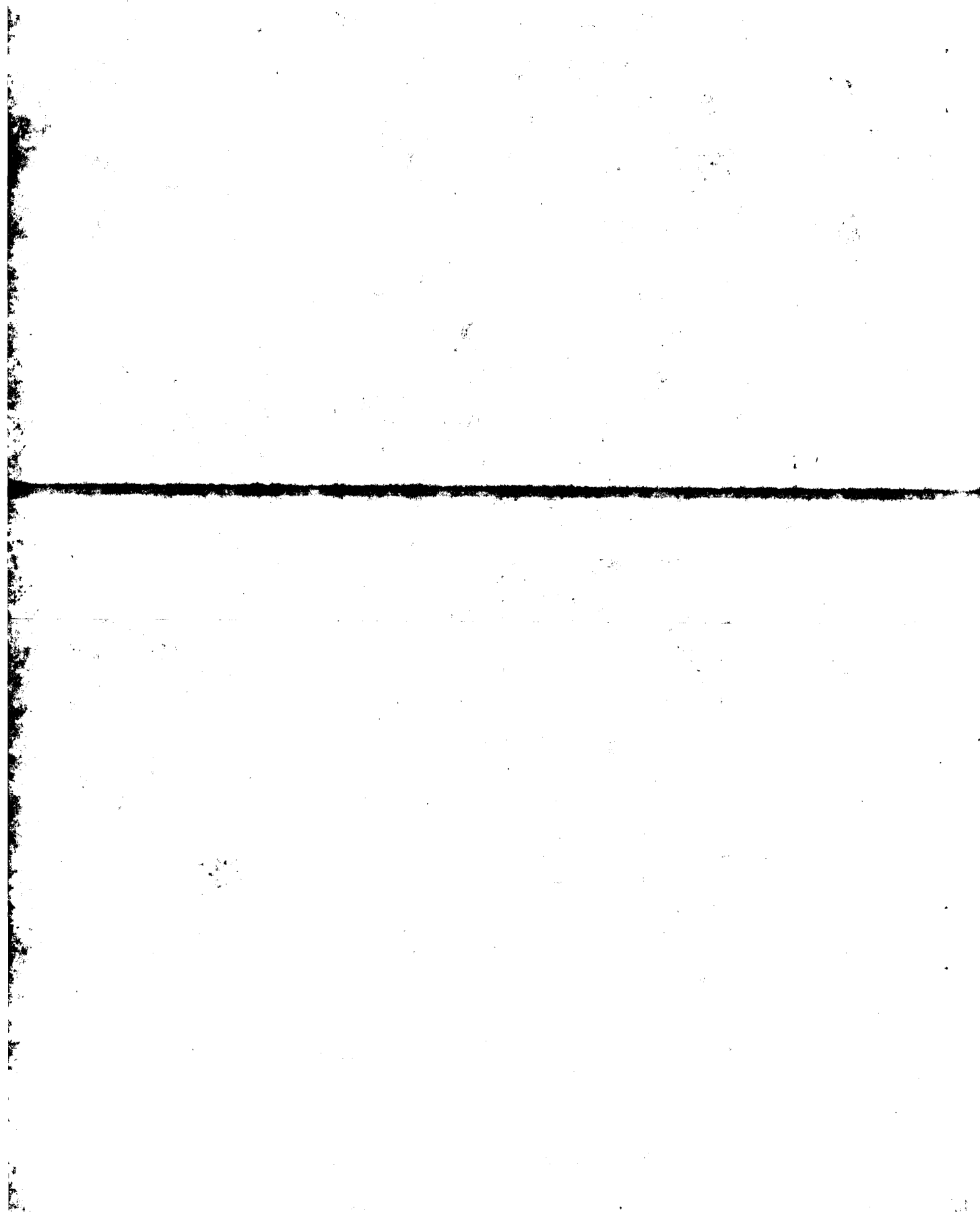
(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 17:

GGGGGGGAAT TCTTTGTATT TACGTGAACG

30

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 18:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 77 paires de bases
 - (B) TYPE: acide nucléique



9

- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: NON

(vi) ORIGINE:

(B) SOUCHE: oligonucleotide de synthese oTG10502

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 18:

AGCTTTTAT TCTATACTTA AAAAATGAAA ATAAACTCGA GTTGTCAAAG CATCATCTCA 60

ACACTGACTT GAGGTAC 77

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 19:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 69 paires de bases

(B) TYPE: acide nucléique

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: OUI

(vi) ORIGINE:

(B) SOUCHE: oligonucleotide de synthese oTG10503

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 19:

CTCAAGTCAG TGTGAGATG ATGCTTTGAC AACTCGAGTT TATTTTCATT TTTTAAGTAT 60

AGAATAAAA 69

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 20:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

(A) LONGUEUR: 39 paires de bases

(B) TYPE: acide nucléique

(C) NOMBRE DE BRINS: simple

(D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: OUI

(vi) ORIGINE:

(C) INDIVIDUEL ISOLE: oligonucleotide de synthese oTG5925

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 20:

TCAGATCTGT CGAGGGATCT GCAGCTTCTT CTAGAGGTA 39

10

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 21:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 44 paires de bases
- (B) TYPE: acide nucléique
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: NON

(vi) ORIGINE:

- (C) INDIVIDUEL ISOLE: oligonucleotide de synthese oTG5924

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 21:

AGTGAATTGC TGCAGGTACC CGGATCCGCA TCGACTATCG ACAT

44

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 22:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 35 paires de bases
- (B) TYPE: acide nucléique
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: NON

(vi) ORIGINE:

- (A) ORGANISME: Homo sapiens
- (B) SOUCHE: lignee cellulaire Daudi
- (C) INDIVIDUEL ISOLE: amorce PCR oTG6353 (clonage B7.1)

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 22:

TCAGCCCCTG AATTCTGCGG AACTGTATAT ACAGG

35

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 23:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 33 paires de bases
- (B) TYPE: acide nucléique
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: OUI

(vi) ORIGINE:

- (A) ORGANISME: Homo sapiens
- (B) SOUCHE: lignee cellulaire Daudi
- (C) INDIVIDUEL ISOLE: amorce PCR oTG6352 (clonage B7.1)

v

1

2

4

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 23:

TTGACCCTAA AGATCTGAAG CCATGGGCCA CAC

33

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Interr. Application No

PCT/FR 98/01576

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 C07K14/025 C12N15/86 A61K39/12

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C07K C12N A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 94 21680 A (US HEALTH) 29 September 1994 claims ---	1,2
Y	WO 93 00436 A (CANCER RES CAMPAIGN TECH) 7 January 1993 claims ---	1-39
Y	BOURSNELL M. ET AL.,: "Construction and characterisation of a recombinant vaccinia virus expressing human papillomavirus proteins for immunotherapy of cervical cancer" VACCINE, vol. 14, no. 16, - 1996 pages 1485-1494, XP002061738 see the whole document --- -/--	1-39

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 November 1998

Date of mailing of the international search report

25/11/1998

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Müller, F

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internat Application No

PCT/FR 98/01576

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	MENEGUZZI G ET AL: "VACCINATION AGAINST PAPILLOMAVIRUS-INDUCED TUMORS USING VACCINIA RECOMBINANTS EXPRESSING NON-STRUCTURAL PROTEINS" JOURNAL OF CELLULAR BIOCHEMISTRY, no. SUP. 13, PART C, 1 January 1989, page 210 XP000121130 see the whole document ---	1-39
A	WO 87 06260 A (TRANSGENE SA ;PASTEUR INSTITUT (FR)) 22 October 1987 see the whole document ---	1-39
A	WO 87 07642 A (TRANSGENE SA ;PASTEUR INSTITUT (FR)) 17 December 1987 see the whole document ---	1-39
A	WO 90 10459 A (TRANSGENE SA) 20 September 1990 see the whole document ---	1-39
A	JARRETT W F H ET AL: "STUDIES ON VACCINATION AGAINST PAPILLOMAVIRUSES: PROPHYLACTIC AND THERAPEUTIC VACCINATION WITH RECOMBINANT STRUCTURAL PROTEINS" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 184, 1991, pages 33-42, XP002023588 see the whole document ---	1-39
P,X	WO 97 27216 A (UNIV GEORGETOWN ;DAVIDSON EUGENE A (US); YANG SHUTONG (US)) 31 July 1997 see the whole document ---	1-3,5, 20,21, 29,30
A	WO 96 39178 A (WISTAR INST ;UNIV PENNSYLVANIA (US); ERTL HILDEGUND C J (US); WILS) 12 December 1996 claims , seq id 2 ---	11-16, 27,34-36
A	SEEDORF K ET AL: "HUMAN PAPILLONMAVIRUS TYPE 16 DNA SEQUENCE" VIROLOGY, vol. 145, no. 1, August 1985, pages 181-185, XP002059799 see the whole document -----	11-16, 27,34-36

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No

PCT/FR 98/01576

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9421680 A	29-09-1994	AU 692152 B	04-06-1998
		AU 6410794 A	11-10-1994
		CA 2158455 A	29-09-1994
		EP 0689551 A	03-01-1996
		JP 8508252 T	03-09-1996
		US 5733548 A	31-03-1998
WO 9300436 A	07-01-1993	AU 662910 B	21-09-1995
		AU 1985992 A	25-01-1993
		EP 0592480 A	20-04-1994
		JP 6508988 T	13-10-1994
WO 8706260 A	22-10-1987	FR 2596771 A	09-10-1987
		FR 2606029 A	06-05-1988
		AU 604696 B	03-01-1991
		AU 7234987 A	09-11-1987
		DE 3789400 D	28-04-1994
		DE 3789400 T	01-09-1994
		DK 641787 A	07-12-1987
		EP 0245136 A	11-11-1987
		ES 2052589 T	16-07-1994
		JP 10059868 A	03-03-1998
		JP 2743164 B	22-04-1998
		JP 8224090 A	03-09-1996
		JP 1500161 T	26-01-1989
		JP 2719917 B	25-02-1998
		KR 9601819 B	05-02-1996
		PT 84640 B	30-11-1989
		US 5672689 A	30-09-1997
		US 5795577 A	18-08-1998
		US 5169763 A	08-12-1992
WO 8707642 A	17-12-1987	FR 2600079 A	18-12-1987
		AU 614934 B	19-09-1991
		AU 7514087 A	11-01-1988
		DE 3789525 D	11-05-1994
		DE 3789525 T	25-08-1994
		DK 76688 A	15-02-1988
		EP 0253693 A	20-01-1988
		ES 2062990 T	01-01-1995

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 98/01576

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 8707642 A		JP 1500962 T	06-04-1989
		PT 85093 B	30-03-1990
WO 9010459 A	20-09-1990	FR 2643817 A	07-09-1990
		CA 2050304 A	07-09-1990
		DE 69002325 T	02-12-1993
		DK 462187 T	18-10-1993
		EP 0462187 A	27-12-1991
		ES 2058898 T	01-11-1994
		JP 5503282 T	03-06-1993
		US 5744133 A	28-04-1998
WO 9727216 A	31-07-1997	AU 2248997 A	20-08-1997
WO 9639178 A	12-12-1996	US 5698202 A	16-12-1997
		AU 6261696 A	24-12-1996

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem: Internationale No

PCT/FR 98/01576

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 6 C07K14/025 C12N15/86 A61K39/12

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
CIB 6 C07K C12N A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 94 21680 A (US HEALTH) 29 septembre 1994 revendications ---	1,2
Y	WO 93 00436 A (CANCER RES CAMPAIGN TECH) 7 janvier 1993 revendications ---	1-39
Y	BOURSNELL M. ET AL.,: "Construction and characterisation of a recombinant vaccinia virus expressing human papillomavirus proteins for immunotherapy of cervical cancer" VACCINE, vol. 14, no. 16, - 1996 pages 1485-1494, XP002061738 voir le document en entier --- -/--	1-39

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- "Z" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

18 novembre 1998

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

25/11/1998

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Müller, F

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dem: Internationale No

PCT/FR 98/01576

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	MENEGUZZI G ET AL: "VACCINATION AGAINST PAPILLOMAVIRUS-INDUCED TUMORS USING VACCINIA RECOMBINANTS EXPRESSING NON-STRUCTURAL PROTEINS" JOURNAL OF CELLULAR BIOCHEMISTRY, no. SUP. 13, PART C, 1 janvier 1989, page 210 XP000121130 voir le document en entier ---	1-39
A	WO 87 06260 A (TRANSGENE SA ; PASTEUR INSTITUT (FR)) 22 octobre 1987 voir le document en entier ---	1-39
A	WO 87 07642 A (TRANSGENE SA ; PASTEUR INSTITUT (FR)) 17 décembre 1987 voir le document en entier ---	1-39
A	WO 90 10459 A (TRANSGENE SA) 20 septembre 1990 voir le document en entier ---	1-39
A	JARRETT W F H ET AL: "STUDIES ON VACCINATION AGAINST PAPILLOMAVIRUSES: PROPHYLACTIC AND THERAPEUTIC VACCINATION WITH RECOMBINANT STRUCTURAL PROTEINS" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 184, 1991, pages 33-42, XP002023588 voir le document en entier ---	1-39
P,X	WO 97 27216 A (UNIV GEORGETOWN ; DAVIDSON EUGENE A (US); YANG SHUTONG (US)) 31 juillet 1997 voir le document en entier ---	1-3,5, 20,21, 29,30
A	WO 96 39178 A (WISTAR INST ; UNIV PENNSYLVANIA (US); ERTL HILDEGUND C J (US); WILS) 12 décembre 1996 revendications, seq id 2 ---	11-16, 27,34-36
A	SEEDORF K ET AL: "HUMAN PAPILLONMAVIRUS TYPE 16 DNA SEQUENCE" VIROLOGY, vol. 145, no. 1, août 1985, pages 181-185, XP002059799 voir le document en entier -----	11-16, 27,34-36

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Dem Internationale No

PCT/FR 98/01576

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9421680 A	29-09-1994	AU 692152 B	04-06-1998
		AU 6410794 A	11-10-1994
		CA 2158455 A	29-09-1994
		EP 0689551 A	03-01-1996
		JP 8508252 T	03-09-1996
		US 5733548 A	31-03-1998
WO 9300436 A	07-01-1993	AU 662910 B	21-09-1995
		AU 1985992 A	25-01-1993
		EP 0592480 A	20-04-1994
		JP 6508988 T	13-10-1994
WO 8706260 A	22-10-1987	FR 2596771 A	09-10-1987
		FR 2606029 A	06-05-1988
		AU 604696 B	03-01-1991
		AU 7234987 A	09-11-1987
		DE 3789400 D	28-04-1994
		DE 3789400 T	01-09-1994
		DK 641787 A	07-12-1987
		EP 0245136 A	11-11-1987
		ES 2052589 T	16-07-1994
		JP 10059868 A	03-03-1998
		JP 2743164 B	22-04-1998
		JP 8224090 A	03-09-1996
		JP 1500161 T	26-01-1989
		JP 2719917 B	25-02-1998
		KR 9601819 B	05-02-1996
		PT 84640 B	30-11-1989
		US 5672689 A	30-09-1997
		US 5795577 A	18-08-1998
		US 5169763 A	08-12-1992
WO 8707642 A	17-12-1987	FR 2600079 A	18-12-1987
		AU 614934 B	19-09-1991
		AU 7514087 A	11-01-1988
		DE 3789525 D	11-05-1994
		DE 3789525 T	25-08-1994
		DK 76688 A	15-02-1988
		EP 0253693 A	20-01-1988
		ES 2062990 T	01-01-1995

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Dem : Internationale No

PCT/FR 98/01576

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
W0 8707642 A		JP 1500962 T	06-04-1989
		PT 85093 B	30-03-1990
W0 9010459 A	20-09-1990	FR 2643817 A	07-09-1990
		CA 2050304 A	07-09-1990
		DE 69002325 T	02-12-1993
		DK 462187 T	18-10-1993
		EP 0462187 A	27-12-1991
		ES 2058898 T	01-11-1994
		JP 5503282 T	03-06-1993
		US 5744133 A	28-04-1998
W0 9727216 A	31-07-1997	AU 2248997 A	20-08-1997
W0 9639178 A	12-12-1996	US 5698202 A	16-12-1997
		AU 6261696 A	24-12-1996

Claims

1. Antitumoral composition comprising, as therapeutic or prophylactic agent, one or more
5 immunogenic polypeptides, characterized in that at least one of said polypeptides is modified so as to have a location different from its native location.
2. Antitumoral composition according to claim 1, characterized in that the modification of the
10 polypeptide is obtained by the introduction of appropriate localization signals and/or the deletion or inactivation of the native localization signals.
3. Antitumoral composition according to either of claims 1 and 2, in which the immunogenic polypeptide
15 naturally having a nonmembrane, in particular nuclear, location is modified so as to have a membrane location.
4. Antitumoral composition according to claim 3, in which the immunogenic polypeptide is modified by insertion of a membrane anchoring sequence and, where
20 appropriate, of a secretory sequence.
5. Composition according to one of claims 1 to 4, characterized in that the polypeptide is deleted for its nuclear localization sequence.
6. Antitumoral composition according to one of
25 claims 1 to 5, in which the secretory and/or membrane anchoring sequence is selected from the group consisting of that of the rabies glycoprotein, of the HIV virus env glycoprotein and of the measles virus F protein.
- 30 7. Antitumoral composition according to one of Claims 1, 2 or 5, in which the immunogenic polypeptide is modified so as to have a cytoplasmic location, in particular by mutation/deletion of the native localization signals.
- 35 8. Antitumoral composition according to one of claims 1, 2 or 5, in which the immunogenic polypeptide is modified by insertion, in particular at its C-

THIS PAGE BLANK (US)

terminal end, of a sequence allowing location in a particular cell compartment.

9. Antitumoral composition according to claim 8, in which the immunogenic polypeptide is modified by insertion, in particular at its C-terminal end, of an endocytosis sequence and, in particular, of the sequence IPNYRNM.

10. Antitumoral composition according to claim 8, in which the immunogenic polypeptide is modified by insertion, in particular at its C-terminal end, of a sequence allowing anchoring in the membrane of the Golgi apparatus.

11. Antitumoral composition according to one of claims 1 to 10, in which the immunogenic polypeptide originates from an early and/or late region of a papillomavirus and in particular of a human papillomavirus (HPV) type 16, 18, 31, 33 or 45.

12. Antitumoral composition according to claim 11, in which the immunogenic polypeptide is derived from a polypeptide of the early region of a papillomavirus and in particular from E6 or E7.

13. Antitumoral composition according to claim 12, in which the immunogenic polypeptide is derived from a nononcogenic variant of said E6 or E7 polypeptide of a papillomavirus.

14. Antitumoral composition according to claim 11, in which the immunogenic polypeptide is derived from the L1 or L2 polypeptide of a papillomavirus.

15. Antitumoral composition according to one of claims 11 to 14, comprising at least one immunogenic polypeptide derived from an early polypeptide and at least one immunogenic polypeptide derived from a late polypeptide of a papillomavirus.

16. Antitumoral composition according to one of claims 11 to 15, comprising:

THIS PAGE BLANK

- (1) an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 1,
 - (2) an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 2,
 - (3) an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 1 and an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 2,
 - (4) an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 1, an immunogenic polypeptide derived from the protein L1 of a papillomavirus and/or an immunogenic polypeptide derived from the protein L2 of a papillomavirus,
 - (5) an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 2, an immunogenic polypeptide derived from the protein L1 of a papillomavirus and/or an immunogenic polypeptide derived from the protein L2 of a papillomavirus, or
 - (6) an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 1, an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 2, an immunogenic polypeptide derived from the protein L1 of a papillomavirus and/or an immunogenic polypeptide derived from the protein L2 of a papillomavirus.
17. Antitumoral composition according to one of claims 1 to 16, comprising, in addition, at least one

THIS PAGE BLANK (US)

compound enhancing the antitumoral effect of said composition.

18. Antitumoral composition according to claim 17, in which said compound is an immunostimulator.

5 19. Antitumoral composition according to claim 18, in which said immunostimulatory compound is selected from the group consisting of interleukin-2, interleukin-7, interleukin-12 and the coadhesion molecules B7.1 and B7.2.

10 20. Antitumoral composition which comprises, as therapeutic or prophylactic agent, at least one recombinant vector comprising the sequences encoding one or more immunogenic polypeptides, at least one of said polypeptides being modified so as to have a
15 location different from its native location and, optionally, a compound enhancing the antitumoral effect of said composition.

21. Antitumoral composition according to claim 20, in which said immunogenic polypeptides enhancing the
20 antitumoral effect have the characteristics as defined in any one of claims 1 to 19.

22. Antitumoral composition according to claim 20 or 21, in which the recombinant vector is derived from a poxvirus and in particular from a vaccinia virus,
25 from a canary poxvirus and from a fowlpox virus.

23. Antitumoral composition according to claim 22, in which the recombinant virus is derived from a vaccinia virus selected from the Copenhagen, Wyeth and modified Ankara (MVA) strains.

30 24. Antitumoral composition according to claim 23, in which the recombinant virus is derived from a vaccinia virus of the Copenhagen strain and the sequences encoding said polypeptide(s) are inserted at the level of the TK and/or K1L locus of said vaccinia
35 virus.

25. Antitumoral composition according to claim 23, in which the recombinant virus is derived from a

THIS PAGE BLANK USF.

vaccinia virus of the MVA strain and the sequences encoding said polypeptide(s) are inserted at the level of at least one of the excision regions I to VI of said vaccinia virus and in particular II and/or III.

5 26. Antitumoral composition according to one of claims 22 to 25, in which the sequences encoding said polypeptide(s) are placed under the control of a promoter of a gene of a vaccinia virus and in particular of a promoter selected from the promoters of
10 the thymidine kinase (TK), 7.5K, H5R p28, p11 and K1L genes.

27. Antitumoral composition according to one of claims 22 to 26, intended for the treatment or the prevention of a papillomavirus infection or tumor,
15 comprising at least one recombinant vector derived from a vaccinia virus of the Copenhagen or MVA strain into which there have been inserted:

- (1) the sequences encoding an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or
20 identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 1,
- (2) the sequences encoding an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ
25 ID NO: 2,
- (3) the sequences encoding an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ
30 ID NO: 1 and an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 2,
- (4) the sequences encoding an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or
35 identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 1, an immunogenic polypeptide derived from the protein L1 of a papillomavirus

THIS PAGE BLANK (US)

- and/or an immunogenic polypeptide derived from the protein L2 of a papillomavirus,
- 5 (5) the sequences encoding an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 2, an immunogenic polypeptide derived from the protein L1 of a papillomavirus and/or an immunogenic polypeptide derived from the protein L2 of a papillomavirus, or
- 10 (6) the sequences encoding an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 1, an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or
- 15 part of that shown in SEQ ID NO: 2, an immunogenic polypeptide derived from the protein L1 of a papillomavirus and/or an immunogenic polypeptide derived from the protein L2 of a papillomavirus.
- 20 28. Antitumoral composition according to claim 27, comprising in addition the sequences encoding an immunostimulatory compound, preferably chosen from IL-2 or B7.1.
- 25 29. Antitumoral composition according to one of claims 20 to 28, in which the recombinant vector is live or killed.
- 30 30. Antitumoral composition according to one of claims 1 to 29, comprising a pharmaceutically acceptable carrier allowing its administration by injection into humans or into animals.
- 35 31. Recombinant vector comprising at least the sequences encoding an immunogenic polypeptide originating from an early and/or late region of a papillomavirus, said polypeptide having the characteristics defined in claims 11 to 16.
32. Recombinant vector according to claim 31, comprising in addition one or more sequences encoding a

THIS PAGE BLANK (USPTO)

polypeptide of interest, in particular an immunogenic polypeptide and/or an immunostimulatory polypeptide.

33. Recombinant vector according to claims 31 or 32, which is derived from a plasmid or viral vector, in particular from a poxvirus and in particular from a vaccinia virus of the Copenhagen or MVA strain.

34. Recombinant vector according to claim 33, which is derived from a vaccinia virus of the Copenhagen or MVA strain into which there have been inserted:

- 10 (1) the sequences encoding an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 1,
- 15 (2) the sequences encoding an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 2,
- 20 (3) the sequences encoding an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 1 and an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 2,
- 25 (4) the sequences encoding an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 1, an immunogenic polypeptide derived from the protein L1 of a papillomavirus and/or an immunogenic polypeptide derived from the protein L2 of a papillomavirus,
- 30 (5) the sequences encoding an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 2, an immunogenic polypeptide derived from the protein L1 of a papillomavirus and/or an immunogenic polypeptide derived from the protein L2 of a papillomavirus, or
- 35

THIS PAGE BLANK (USPTO)

- (6) the sequences encoding an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 1, an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 2, an immunogenic polypeptide derived from the protein L1 of a papillomavirus and/or an immunogenic polypeptide derived from the protein L2 of a papillomavirus.
35. Viral particle comprising a recombinant vector according to one of claims 31 to 34.
36. Viral particle according to claim 35, in which said immunogenic polypeptide is anchored in the protein structure surrounding said viral particle.
37. Use of an antitumoral composition according to one of claims 1 to 30, of a recombinant vector according to one of claims 31 to 34 or of a viral particle according to claim 35 or 36, for the preparation of a medicament intended for the treatment or for the prevention of cancer or of a tumor.
38. Use according to claim 37, for the preparation of a medicament intended for the treatment or for the prevention of cancer of the cervix, of low-grade cervical dysplasia and of a papillomavirus infection.
39. Use according to claim 37 or 38, for the preparation of a medicament which can be injected by the intramuscular route.

THIS PAGE BLANK (COPY)

[received by the international bureau on

21 January 1999 (21.01.99);

claim 1 amended; claims 11-39 amended and renumbered
11-38; other claims unchanged (8 pages)]

1. Antitumoral composition comprising, as therapeutic or prophylactic agent, one or more immunogenic polypeptides, characterized in that at least one of said polypeptides originates from an early and/or late region of a papillomavirus, and in particular of a human papillomavirus (HPV) type 16, 18, 31, 33 or 45, and is modified so as to have a location different from its native location.
2. Antitumoral composition according to claim 1, characterized in that the modification of the polypeptide is obtained by the introduction of appropriate localization signals and/or the deletion or inactivation of the native localization signals.
3. Antitumoral composition according to either of claims 1 and 2, in which the immunogenic polypeptide naturally having a nonmembrane, in particular nuclear, location is modified so as to have a membrane location.
4. Antitumoral composition according to claim 3, in which the immunogenic polypeptide is modified by insertion of a membrane anchoring sequence and, where appropriate, of a secretory sequence.
5. Composition according to one of claims 1 to 4, characterized in that the polypeptide is deleted for its nuclear localization sequence.
6. Antitumoral composition according to one of claims 1 to 5, in which the secretory and/or membrane anchoring sequence is selected from the group consisting of that of the rabies glycoprotein, of the HIV virus env glycoprotein and of the measles virus F protein.
7. Antitumoral composition according to one of Claims 1, 2 or 5, in which the immunogenic polypeptide is modified so as to have a cytoplasmic location, in

214 Rec'd PCT/PIO 18 JAN 2000
EPPS04 100

- (2) an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 2,
 - (3) an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 1 and an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 2,
 - (4) an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 1, an immunogenic polypeptide derived from the protein L1 of a papillomavirus and/or an immunogenic polypeptide derived from the protein L2 of a papillomavirus,
 - (5) an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 2, an immunogenic polypeptide derived from the protein L1 of a papillomavirus and/or an immunogenic polypeptide derived from the protein L2 of a papillomavirus, or
 - (6) an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 1, an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 2, an immunogenic polypeptide derived from the protein L1 of a papillomavirus and/or an immunogenic polypeptide derived from the protein L2 of a papillomavirus.
16. Antitumoral composition according to one of claims 1 to 15, comprising, in addition, at least one compound enhancing the antitumoral effect of said composition.
17. Antitumoral composition according to claim 16, in which said compound is an immunostimulator.
18. Antitumoral composition according to claim 17, in which said immunostimulatory compound is selected

from the group consisting of interleukin-2, interleukin-7, interleukin-12 and the coadhesion molecules B7.1 and B7.2.

19. Antitumoral composition which comprises, as therapeutic or prophylactic agent, at least one recombinant vector comprising the sequences encoding one or more immunogenic polypeptides, at least one of said polypeptides originating from an early and/or late region of a papillomavirus, and in particular of a human papillomavirus (HPV) type 16, 18, 31, 33 or 45, and being modified so as to have a location different from its native location and, optionally, a compound enhancing the antitumoral effect of said composition.

20. Antitumoral composition according to claim 19, in which said immunogenic polypeptides enhancing the antitumoral effect have the characteristics as defined in any one of claims 1 to 18.

21. Antitumoral composition according to claim 19 or 20, in which the recombinant vector is derived from a poxvirus and in particular from a vaccinia virus, from a canary poxvirus and from a fowlpox virus.

22. Antitumoral composition according to claim 21, in which the recombinant virus is derived from a vaccinia virus selected from the Copenhagen, Wyeth and modified Ankara (MVA) strains.

23. Antitumoral composition according to claim 22, in which the recombinant virus is derived from a vaccinia virus of the Copenhagen strain and the sequences encoding said polypeptide(s) are inserted at the level of the TK and/or K1L locus of said vaccinia virus.

24. Antitumoral composition according to claim 22, in which the recombinant virus is derived from a vaccinia virus of the MVA strain and the sequences encoding said polypeptide(s) are inserted at the level of at least one of the excision regions I to VI of said vaccinia virus and in particular II and/or III.

25. Antitumoral composition according to one of claims 21 to 24, in which the sequences encoding said polypeptide(s) are placed under the control of a

-53-

promoter of a gene of a vaccinia virus and in particular of a promoter selected from the promoters of the thymidine kinase (TK), 7.5K, H5R p28, p11 and K1L genes.

26. Antitumoral composition according to one of claims 21 to 25, intended for the treatment or the prevention of a papillomavirus infection or tumor, comprising at least one recombinant vector derived from a vaccinia virus of the Copenhagen or MVA strain into which there have been inserted:

- (1) the sequences encoding an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 1,
- (2) the sequences encoding an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 2,
- (3) the sequences encoding an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 1 and an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 2,
- (4) the sequences encoding an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 1, an immunogenic polypeptide derived from the protein L1 of a papillomavirus and/or an immunogenic polypeptide derived from the protein L2 of a papillomavirus,
- (5) the sequences encoding an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 2, an immunogenic polypeptide derived from the protein L1 of a papillomavirus and/or an immunogenic polypeptide derived from the protein L2 of a papillomavirus, or
- (6) the sequences encoding an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or

AMENDED SHEET (ARTICLE 19)

identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 1, an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 2, an immunogenic polypeptide derived from the protein L1 of a papillomavirus and/or an immunogenic polypeptide derived from the protein L2 of a papillomavirus.

27. Antitumoral composition according to claim 26, comprising in addition the sequences encoding an immunostimulatory compound, preferably chosen from IL-2 or B7.1.

28. Antitumoral composition according to one of claims 19 to 27, in which the recombinant vector is live or killed.

29. Antitumoral composition according to one of claims 1 to 28, comprising a pharmaceutically acceptable carrier allowing its administration by injection into humans or into animals.

30. Recombinant vector comprising at least the sequences encoding an immunogenic polypeptide originating from an early and/or late region of a papillomavirus, said polypeptide having the characteristics defined in claims 1 to 15.

31. Recombinant vector according to claim 30, comprising in addition one or more sequences encoding a polypeptide of interest, in particular an immunogenic polypeptide and/or an immunostimulatory polypeptide.

32. Recombinant vector according to claims 30 or 31, which is derived from a plasmid or viral vector, in particular from a poxvirus and in particular from a vaccinia virus of the Copenhagen or MVA strain.

33. Recombinant vector according to claim 32, which is derived from a vaccinia virus of the Copenhagen or MVA strain into which there have been inserted:

- (1) the sequences encoding an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 1,

- (2) the sequences encoding an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 2,
- (3) the sequences encoding an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 1 and an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 2,
- (4) the sequences encoding an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 1, an immunogenic polypeptide derived from the protein L1 of a papillomavirus and/or an immunogenic polypeptide derived from the protein L2 of a papillomavirus,
- (5) the sequences encoding an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 2, an immunogenic polypeptide derived from the protein L1 of a papillomavirus and/or an immunogenic polypeptide derived from the protein L2 of a papillomavirus, or
- (6) the sequences encoding an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 1, an immunogenic polypeptide having a sequence homologous or identical to all or part of that shown in SEQ ID NO: 2, an immunogenic polypeptide derived from the protein L1 of a papillomavirus and/or an immunogenic polypeptide derived from the protein L2 of a papillomavirus.

34. Viral particle comprising a recombinant vector according to one of claims 30 to 33.

35. Viral particle according to claim 34, in which said immunogenic polypeptide is anchored in the protein structure surrounding said viral particle.

36. Use of an antitumoral composition according to one of claims 1 to 29, of a recombinant vector according to one of claims 30 to 33 or of a viral particle according to claim 34 or 35, for the preparation of a medicament intended for the treatment or for the prevention of cancer or of a tumor.

37. Use according to claim 36, for the preparation of a medicament intended for the treatment or for the prevention of cancer of the cervix, of low-grade cervical dysplasia and of a papillomavirus infection.

38. Use according to claim 36 or 37, for the preparation of a medicament which can be injected by the intramuscular route.

REVENDEICATIONS MODIFIEES

[reçues par le Bureau international le 21 janvier 1999 (21.01.99);
revendication 1 modifiée; revendications 11-39 modifiées et renumérotées 11-38;
autres revendications inchangées (8 pages)]

1. Composition antitumorale comprenant à titre d'agent thérapeutique ou prophylactique un ou plusieurs polypeptide(s) immunogène(s), caractérisée en ce que l'un au moins desdits polypeptides est originaire d'une région précoce et/ou tardive d'un papillomavirus et, notamment d'un papillomavirus humain (HPV) de type 16, 18, 31, 33 ou 45, et est modifié de manière à présenter une localisation différente de sa localisation native.
2. Composition antitumorale selon la revendication 1, caractérisée en ce que la modification du polypeptide est obtenue par l'introduction de signaux de localisation appropriés et/ou la délétion ou l'inactivation des signaux de localisation natifs.
3. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 ou 2, dans laquelle le polypeptide immunogène ayant naturellement une localisation non membranaire, notamment nucléaire, est modifié de manière à présenter une localisation membranaire.
4. Composition antitumorale selon la revendication 3, dans laquelle le polypeptide immunogène est modifié par insertion d'une séquence d'ancrage membranaire et, le cas échéant, d'une séquence de sécrétion.
5. Composition selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que le polypeptide est délété de sa séquence de localisation nucléaire.
6. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 5, dans laquelle la séquence de sécrétion et/ou d'ancrage membranaire est sélectionnée parmi le groupe constitué par celle de la glycoprotéine rabique, de la glycoprotéine env du virus HIV et de la protéine F du virus de la rougeole.

7. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1, 2 ou 5, dans laquelle le polypeptide immunogène est modifié de manière à présenter une localisation cytoplasmique, notamment par mutation/délétion des signaux de localisation natifs.
- 5 8. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1, 2 ou 5, dans laquelle le polypeptide immunogène est modifié par insertion, notamment à son extrémité C-terminale d'une séquence permettant une localisation dans un compartiment cellulaire particulier.
- 10 9. Composition antitumorale selon la revendication 8, dans laquelle le polypeptide immunogène est modifié par insertion, notamment à son extrémité C-terminale d'une séquence d'endocytose et, en particulier, de la séquence IPNYRNM.
- 15 10. Composition antitumorale selon la revendication 8, dans laquelle le polypeptide immunogène est modifié par insertion, notamment à son extrémité C-terminale d'une séquence permettant un ancrage dans la membrane de l'appareil de Golgi.
- 20 11. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 10, dans laquelle le polypeptide immunogène dérive d'un polypeptide de la région précoce d'un papillomavirus et, notamment de E6 ou E7.
- 25 12. Composition antitumorale selon la revendication 11, dans laquelle le polypeptide immunogène dérive d'un variant non oncogène dudit polypeptide E6 ou E7 d'un papillomavirus.
13. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 10, dans laquelle le polypeptide immunogène dérive du polypeptide L1 ou L2 d'un papillomavirus.
- 30 14. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 13, comprenant au moins un polypeptide immunogène dérivant d'un polypeptide précoce et au moins un polypeptide immunogène dérivant d'un polypeptide tardif d'un papillomavirus.

15. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 14, comprenant :
- (1) un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1,
 - (2) un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2,
 - (3) un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1 et un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2,
 - (4) un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1, un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus,
 - (5) un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2, un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus, ou
 - (6) un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1, un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2, un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus.
16. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 15, comprenant en outre au moins un composé améliorant l'effet antitumoral de ladite composition.
17. Composition antitumorale selon la revendication 16, dans laquelle ledit composé est un immunostimulateur.

18. Composition antitumorale selon la revendication 17, dans laquelle ledit composé immunostimulateur est sélectionné parmi le groupe constitué par l'interleukine-2, l'interleukine-7, l'interleukine-12 et les molécules de co-adhésion B7.1 et B7.2.
- 5 19. Composition antitumorale qui comprend à titre d'agent thérapeutique ou prophylactique au moins un vecteur recombinant comprenant les séquences codant pour un ou plusieurs polypeptide(s) immunogène(s), l'un au moins desdits polypeptides étant originaire d'une région précoce et/ou tardive d'un papillomavirus et, notamment d'un papillomavirus humain (HPV) de type 16, 18, 10 31, 33 ou 45, et étant modifié de manière à présenter une localisation différente de sa localisation native et, éventuellement, pour un composé améliorant l'effet antitumoral de ladite composition.
- 15 20. Composition antitumorale selon la revendication 19, dans laquelle lesdits polypeptides immunogènes et améliorant l'effet antitumoral ont les caractéristiques telles que définies à l'une quelconque des revendications 1 à 18.
- 20 21. Composition antitumorale selon la revendication 19 ou 20, dans laquelle le vecteur recombinant dérive d'un poxvirus et notamment d'un virus de la vaccine, d'un canaripox et d'un fowlpox.
- 25 22. Composition antitumorale selon la revendication 21, dans laquelle le vecteur recombinant dérive d'un virus de la vaccine sélectionné parmi les souches Copenhague, Wyeth et Ankara modifiée (MVA).
- 30 23. Composition antitumorale selon la revendication 22, dans laquelle le vecteur recombinant dérive d'un virus de la vaccine de la souche Copenhague et les séquences codant pour le ou lesdits polypeptides sont insérées au niveau du locus TK et/ou K1L dudit virus de la vaccine.
24. Composition antitumorale selon la revendication 22, dans laquelle le vecteur recombinant dérive d'un virus de la vaccine de la souche MVA et les séquences

codant pour le ou lesdits polypeptides sont insérées au niveau de l'une au moins des zones d'excision I à VI dudit virus de la vaccine et, notamment II et/ou III.

25. Composition antitumorale selon l'une des revendications 21 à 24, dans laquelle les séquences codant pour le ou lesdits polypeptides sont placées sous le contrôle d'un promoteur d'un gène d'un virus de la vaccine et, notamment d'un promoteur sélectionné parmi les promoteurs des gènes thymidine kinase (TK), 7,5K, H5R p28, p11 et K1L.
26. Composition antitumorale selon l'une des revendications 21 à 25, destinée au traitement ou la prévention d'une infection ou tumeur à papillomavirus, comprenant au moins un vecteur recombinant dérivé d'un virus de la vaccine de la souche Copenhague ou MVA dans lequel sont insérées :
- (1) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1,
 - (2) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2,
 - (3) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1 et pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2,
 - (4) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1, pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus,
 - (5) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2, pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L1 d'un

papillomavirus et/ou pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus, ou

- (6) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1, pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2, pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus.

10

27. Composition antitumorale selon la revendication 26, comprenant en outre les séquences codant pour un composé immunostimulateur, de préférence, choisi parmi L'IL-2 ou B7.1.

- 15 28. Composition antitumorale selon l'une des revendications 19 à 27, dans laquelle le vecteur recombinant est vivant ou tué.

29. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 28, comportant un support acceptable d'un point de vue pharmaceutique permettant son administration par injection à l'homme ou à l'animal.

20

30. Vecteur recombinant comprenant au moins les séquences codant pour un polypeptide immunogène originaire d'une région précoce et/ou tardive d'un papillomavirus, ledit polypeptide ayant les caractéristiques définies aux revendications 1 à 15.

25

31. Vecteur recombinant selon la revendication 30, comprenant en outre une ou plusieurs séquences codant pour un polypeptide d'intérêt, notamment un polypeptide immunogène et/ou un polypeptide immunostimulateur.

30

32. Vecteur recombinant selon la revendication 30 ou 31, dérivant d'un vecteur plasmidique ou viral, notamment d'un poxvirus et en particulier d'un virus de la vaccine de la souche Copenhagen ou MVA.
- 5 33. Vecteur recombinant selon la revendication 32, dérivant d'un virus de la vaccine de la souche Copenhagen ou MVA dans lesquels sont insérées :
- (1) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 1,
 - 10 (2) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2,
 - (3) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID
15 NO: 1 et pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2,
 - (4) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID
20 NO: 1, pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus,
 - (5) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID
25 NO: 2, pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus, ou
 - (6) les séquences codant pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID
30 NO: 1, pour un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à tout ou partie de celle montrée dans la SEQ ID NO: 2, pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L1 d'un papillomavirus

et/ou pour un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus.

- 5 34. Particule virale comprenant un vecteur recombinant selon l'une des revendications 30 à 33.
35. Particule virale selon la revendication 34, dans laquelle ledit polypeptide immunogène est ancré dans la structure protéique entourant ladite particule virale.
- 10 36. Utilisation d'une composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 29, d'un vecteur recombinant selon l'une des revendications 30 à 33 ou d'une particule virale selon la revendication 34 ou 35, pour la préparation d'un médicament destiné au traitement ou à la prévention d'un cancer ou d'une tumeur.
- 15 37. Utilisation selon la revendication 36, pour la préparation d'un médicament destiné au traitement ou à la prévention d'un cancer du col de l'utérus, d'une dysplasie du col de bas grade et d'une infection à papillomavirus.
- 20 38. Utilisation selon la revendication 36 ou 37, pour la préparation d'un médicament injectable par la voie intramusculaire.

09/462993

WO 99/03885
PCT/FR98/01576

PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCTNOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE
COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL
APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

To:

MARTIN, J an-Jacques
Cabinet Regimbeau
26, avenue Kléber
F-75116 Paris
FRANCE

[STAMP]

Date of mailing (day/month/year) 28 January 1999 (28.01.99)		
Applicant's or agent's file reference 339219/17059		IMPORTANT NOTICE
International application No. PCT/FR98/01576	International filing date (day/month/year) 17 July 1998 (17.07.98)	Priority date (day/month/year) 18 July 1997 (18.07.97)
Applicant TRANSGENE S.A. etc		

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:
AU,BR,CA,CN,EP,IL,JP,KP,KR,US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, each designated Office will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived their requirement whereby this communication must take place by that date:
AL,AM,AP,AT,AZ,BA,BB,BG,BY,CH,CU,CZ,DE,DK,EA,EE,ES,FI,GB,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IS,KE,KG,KZ,LC,LK,LR,LS,LY,LU,LV,MD,MG,MK,MN,MW,MX,NO,NZ,OA,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TR,TT,UA,UG,UZ,VN,YU,ZW
Communication will take place only when requested by these Offices. Moreover, the applicant is not required to furnish a copy of the international application to the Offices in question (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on
28 January 1999 (28.01.99) under No. WO 99/03885

REMINDER REGARDING CHAPTER 11 (Article 31.2)(a) and Rule 54.2)

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a **demand for international preliminary examination** must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))

If the applicant wishes to proceed with the international application in the **national phase**, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Authorized officer: J. Zahra Telephone No. (41-22) 338.83.38
--	--

THIS PAGE BLANK (USPTO)

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS 09/462993

2nd corrected version

PCT

MIP

Expéditeur : L'ADMINISTRATION CHARGÉE DE
L'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

Destinataire

MARTIN, J.
Cabinet REGIMBEAU
26, avenue Kléber
75116 Paris
FRANCE

ARRIVEE

23 NOV 1998

CABINET
REGIMBEAU

NOTIFICATION DE TRANSMISSION DU RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

(règle 61.1 DU PCT)

Date d'expédition
(jour/mois/année)

17. 11. 99

Référence du dossier du déposant ou du mandataire

339219/17059

NOTIFICATION IMPORTANTE

Demande internationale n°

PCT/FR 98/ 01576

Date du dépôt international (jour/mois/année)

17/07/1998

Date de priorité (jour/mois/année)

18/07/1997

Déposant

TRANSGENE S.A. et al.

1. Il est notifié au déposant que l'administration chargée de l'examen préliminaire internationale a établi le rapport d'examen préliminaire international pour la demande internationale et le lui transmet ci-joint, accompagné, le cas échéant, de ses annexes.
2. Une copie du présent rapport et, le cas échéant, de ses annexes, est transmise au Bureau international pour communication à tous les offices élus.
3. Si tel ou tel office élu l'exige, le Bureau international établira une traduction en langue anglaise du rapport (à l'exclusion des annexes de celui-ci) et la transmettra aux offices intéressés.
4. **RAPPEL**
Pour aborder la phase nationale auprès de chaque office élu, le déposant doit accomplir certains actes (dépôt de traduction et paiement des taxes nationales) dans le délai de 30 mois à compter de la date de priorité (ou plus tard pour ce qui concerne certains offices) (article 39.1) (voir aussi le rappel envoyé par le Bureau international dans le formulaire PCT/IB/301).

Lorsqu'une traduction de la demande internationale doit être remise à un office élu, elle doit comporter la traduction de toute annexe du rapport d'examen préliminaire international. Il appartient au déposant d'établir la traduction en question et de la remettre directement à chaque office élu intéressé.

Pour plus de précisions en ce qui concerne les délais applicables et les exigences des offices élus, voir le Volume II du Guide du déposant du PCT.

Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen
préliminaire international

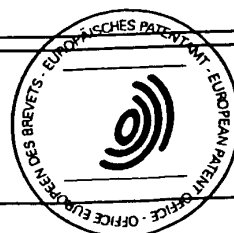


Office Européen des Brevets
D-80298 Munich
Tel. (+ 49-89) 2399-0, Tx: 523656 epmu d
Fax: (+ 49-89) 2399-4465

Fonctionnaire autorisé

Ricardo Peralt Lappas

tel. 23998052





THIS PAGE BLANK (USPTO)

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

(article 36 et règle 70 du PCT)

Référence du dossier du déposant ou du mandataire 339219/17059	POUR SUITE A DONNER voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416)	
Demande internationale n° PCT/FR98/01576	Date du dépôt international (jour/mois/année) 17/07/1998	Date de priorité (jour/mois/année) 18/07/1997
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB C07K14/025		
Déposant TRANSGENE S.A. et al.		
<p>1. Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.</p> <p>2. Ce RAPPORT comprend 5 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).</p> <p>Ces annexes comprennent 3 feuilles.</p>		
<p>3. Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:</p> <ul style="list-style-type: none">I <input checked="" type="checkbox"/> Base du rapportII <input type="checkbox"/> PrioritéIII <input type="checkbox"/> Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielleIV <input type="checkbox"/> Absence d'unité de l'inventionV <input checked="" type="checkbox"/> Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclarationVI <input type="checkbox"/> Certains documents citésVII <input checked="" type="checkbox"/> Irrégularités dans la demande internationaleVIII <input type="checkbox"/> Observations relatives à la demande internationale		
Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale 15/02/1999	Date d'achèvement du présent rapport 19. 10. 99	
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international:  Office européen des brevets D-80298 Munich Tél. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epm d Fax: +49 89 2399 - 4465	Fonctionnaire autorisé Kaas, V N° de téléphone +49 89 2399 8704 	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**RAPPORT D'EXAMEN
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR98/01576

I. Base du rapport

1. Ce rapport a été rédigé sur la base des éléments ci-après (*les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées, dans le présent rapport, comme "initialement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications.*) :

Description, pages:

1-39 version initiale

Revendications, N°:

1-20 reçue(s) le 08/11/1999 avec la lettre du 08/11/1999

Dessins, feuilles:

1/5-5/5 version initiale

1-11 version initiale (liste des sequences)

2. Les modifications ont entraîné l'annulation :

☐ de la description, pages :

☐ des revendications, n°s :

☐ des dessins, feuilles :

3. ☐ Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

4. Observations complémentaires, le cas échéant :

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**RAPPORT D'EXAMEN
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR98/01576

V. Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

1. Déclaration

Nouveauté	Oui : Revendications 2-14, 20
	Non : Revendications 1, 15-19
Activité inventive	Oui : Revendications
	Non : Revendications 1-20
Possibilité d'application industrielle	Oui : Revendications 1-20
	Non : Revendications

2. Citations et explications

voir feuille séparée

VII. Irrégularités dans la demande internationale

Les irrégularités suivantes, concernant la forme ou le contenu de la demande internationale, ont été constatées :

voir feuille séparée

THIS PAGE BLANK (USP)

1) La présente demande concerne une composition antitumorale comprenant au moins un vecteur recombinant comprenant des séquences codant pour un ou plusieurs polypeptide(s) immunogène(s) présentant naturellement une localisation non membranaire, ce ou ces polypeptides étant modifiés par insertion d'une séquence d'ancrage membranaire de manière à présenter une localisation membranaire dans les cellules dans lesquelles ils sont exprimés. La demande concerne également le vecteur en lui-même, une particule virale le comprenant et une composition antitumorale comprenant le ou les polypeptides modifiés. Enfin, la demande concerne l'utilisation de ladite composition pour la préparation d'un médicament destiné au traitement ou à la prévention d'un cancer du col de l'utérus, d'une dysplasie du col de bas grade ou d'une infection à papillomavirus.

2) Le document WO-A-94/21680 décrit des vecteurs comprenant des séquences codant pour un polypeptide immunogène fusionné avec une séquence signal de reticulum endoplasmique ("ER signal sequence") et leur utilisation dans des compositions pour le traitement des cancers et des infections virales (cf. page 4, ligne 8- page 5, ligne 15; page 9, ligne 24- page 12, ligne 7; page 16, ligne 4- page 19, ligne 4). Il est décrit que le polypeptide peut avoir une taille comprise entre environ 5 et environ 1000 acides aminés et peut, par exemple, dériver de la région précoce d'un virus (cf. page 7, lignes 16-30). Le signal ER intervient pour permettre l'ancrage des polypeptides chimères dans la membrane du reticulum endoplasmique (cf. page 6, ligne 31- page 7, ligne 15) afin de pouvoir ensuite être présentés à la surface des cellules par les molécules de classe I du MCH (cf. page 3, lignes 2-7). Cette divulgation correspond exactement à l'approche présentée dans le cadre de la présente invention par la demanderesse à la page 6, lignes 8 à 23.

Le document WO-A-94/21680 prive donc de nouveauté l'objet des revendications 1 et 15 à 19.

3) Comme l'indique la demanderesse à la page 7, lignes 6 à 28, le choix du signal de localisation est vaste et n'est pas limité à des signaux de localisation ciblant une membrane d'un compartiment cellulaire particulier. De même, le document WO-A-94/21680 décrit qu'il est possible remplacer la séquence ER par tout autre séquence signal connue. De plus, l'adaptation de la composition antitumorale décrite dans ce document à une utilisation destinée au traitement ou à la prévention d'une infection ou

THIS PAGE BLANK (USPTO)

tumeur à papillomavirus ne semble pas dépasser les compétences normales de l'homme du métier, étant donné que, comme le reconnaît la demanderesse aux pages 2 et 3, les gènes précoces et tardifs d'un certain nombre de papillomavirus avaient déjà été identifiés et clonés avant la date de priorité revendiquée. L'homme du métier n'aurait donc eu qu'à utiliser comme polypeptide d'adénovirus dans la composition dudit document un polypeptide de papillomavirus qu'il avait à disposition. Par conséquent, L'objet des revendications 3 à 10 et 20 n'implique donc pas d'activité inventive (Article 33(3) PCT).

4) L'objet de la revendication 2 représente un choix évident qui se serait présenté à l'homme du métier connaissant WO-A-94/21680 et les caractéristiques des revendications 11 à 14 sont purement conventionnelles. Ces revendications ne satisfont donc pas non plus au critère énoncé par l'article 33(3) PCT).

5) Les revendications 1 à 20 sont susceptibles d'application industrielle telle que définie par l'article 33(3) PCT.

6) Le présent rapport a été établi en présumant que toutes les revendications bénéficient de la date de priorité revendiquée. Ainsi, le document "WO-A-96/39178" n'a pas été considéré comme faisant partie de l'état de la technique tel que défini par le règlement d'exécution (Règle 64(1)-(3) PCT).

7) Contrairement à ce qu'exige la règle 5.1 a) ii) PCT, la description n'indique pas l'état de la technique antérieure pertinent exposé dans le document WO-A-94/21680 et ne cite pas ce document.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Revendications

1. Composition antitumorale comprenant au moins un vecteur recombinant renfermant les séquences codant pour un ou plusieurs polypeptide(s) immunogène(s), caractérisée en ce que l'un au moins desdits polypeptides est un polypeptide présentant naturellement une localisation non membranaire et qui est modifié par insertion d'une séquence d'ancrage membranaire de manière à présenter une localisation membranaire dans les cellules dans lesquelles il est exprimé.
2. Composition antitumorale selon la revendication 1, caractérisée en ce que ledit polypeptide présente naturellement une localisation nucléaire et est en outre délété de sa séquence naturelle de localisation nucléaire.
3. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 et 2, caractérisée en ce que ladite séquence d'ancrage membranaire est sélectionnée parmi le groupe constitué par celle de la glycoprotéine rabique, de la glycoprotéine env du virus HIV et de la protéine F du virus de la rougeole.
4. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que ledit polypeptide immunogène est originaire d'une région précoce et/ou tardive d'un papillomavirus.
5. Composition antitumorale selon la revendication 4, caractérisée en ce que ledit polypeptide immunogène dérive d'un polypeptide de la région précoce d'un papillomavirus.
6. Composition antitumorale selon la revendication 5, caractérisée en ce que ledit polypeptide immunogène dérive d'un polypeptide E6 ou E7 d'un papillomavirus.
7. Composition antitumorale selon la revendication 6, caractérisée en ce que ledit polypeptide immunogène dérive d'un variant non oncogène dudit polypeptide E6 ou E7 d'un papillomavirus.
8. Composition antitumorale selon la revendication 4, caractérisée en ce que ledit polypeptide immunogène dérive du polypeptide L1 ou L2 d'un papillomavirus.
9. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 8, caractérisée en ce qu'au moins un polypeptide immunogène dérive d'un polypeptide précoce et au

THIS PAGE BLANK

THIS PAGE BLANK (USPTO)

l'interleukine-2, l'interleukine-7, l'interleukine-12 et les molécules de co-adhésion B7.1 et B7.2.

14. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 13, caractérisée en ce que ledit vecteur recombinant dérive d'un poxvirus.
- 5 15. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 14, renfermant un support acceptable d'un point de vue pharmaceutique permettant son administration par injection à l'homme ou à l'animal.
16. Vecteur recombinant comprenant les séquences codant pour un ou plusieurs polypeptide(s) immunogène(s), caractérisé en ce que l'un au moins desdits
10 polypeptides présente les caractéristiques définies aux revendications 1 à 15.
17. Particule virale comprenant un vecteur recombinant selon la revendication 16.
18. Composition antitumorale caractérisée en ce qu'elle comprend un ou plusieurs polypeptide(s) immunogène(s), caractérisée en ce que l'un au moins desdits polypeptides présente les caractéristiques définies aux revendications 1 à 10.
- 15 19. Utilisation d'une composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 15 et 18, d'un vecteur recombinant selon la revendication 16 ou d'une particule virale
selon la revendication 17, pour la préparation d'un médicament destiné au traitement ou à la prévention d'un cancer ou d'une tumeur.
- 20 20. Utilisation selon la revendication 19, pour la préparation d'un médicament destiné au traitement ou à la prévention d'un cancer du col de l'utérus, d'une dysplasie du col de bas grade ou d'une infection à papillomavirus.

THIS PAGE BLANK (USP10)

09/4629939. T

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

REC'D 19 NOV 1999

WIPO PCT

RAPPORT D'EXAMEN PRELIMINAIRE INTERNATIONAL

(article 36 et règle 70 du PCT)



Référence du dossier du déposant ou du mandataire 339219/17059	POUR SUITE A DONNER voir la notification de transmission du rapport d'examen préliminaire international (formulaire PCT/IPEA/416)	
Demande internationale n° PCT/FR98/01576	Date du dépôt international (jour/mois/année) 17/07/1998	Date de priorité (jour/mois/année) 18/07/1997
Classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois classification nationale et CIB C07K14/025		
Déposant TRANSGENE S.A. et al.		

1. Le présent rapport d'examen préliminaire international, établi par l'administration chargée de l'examen préliminaire international, est transmis au déposant conformément à l'article 36.
2. Ce RAPPORT comprend 5 feuilles, y compris la présente feuille de couverture.
- ☒ Il est accompagné d'ANNEXES, c'est-à-dire de feuilles de la description, des revendications ou des dessins qui ont été modifiées et qui servent de base au présent rapport ou de feuilles contenant des rectifications faites auprès de l'administration chargée de l'examen préliminaire international (voir la règle 70.16 et l'instruction 607 des Instructions administratives du PCT).
- Ces annexes comprennent 3 feuilles.

3. Le présent rapport contient des indications relatives aux points suivants:

- I ☒ Base du rapport
- II ☐ Priorité
- III ☐ Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
- IV ☐ Absence d'unité de l'invention
- V ☒ Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
- VI ☐ Certains documents cités
- VII ☒ Irrégularités dans la demande internationale
- VIII ☐ Observations relatives à la demande internationale

CORRECTED
VERSION

Date de présentation de la demande d'examen préliminaire internationale 15/02/1999	Date d'achèvement du présent rapport 19. 11. 99
Nom et adresse postale de l'administration chargée de l'examen préliminaire international:  Office européen des brevets D-80298 Munich Tél. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Fonctionnaire autorisé Kaas, V N° de téléphone +49 89 2399 8704 

**RAPPORT D'EXAMEN
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR98/01576

I. Base du rapport

1. Ce rapport a été rédigé sur la base des éléments ci-après (les feuilles de remplacement qui ont été remises à l'office récepteur en réponse à une invitation faite conformément à l'article 14 sont considérées, dans le présent rapport, comme "initialement déposées" et ne sont pas jointes en annexe au rapport puisqu'elles ne contiennent pas de modifications.) :

Description, pages:

1-39 version initiale

Revendications, N°:

1-20 reçue(s) le 08/11/1999 avec la lettre du 08/11/1999

Dessins, feuilles:

1/5-5/5 version initiale

1-11 version initiale (liste des sequences)

2. Les modifications ont entraîné l'annulation :

- ☐ de la description, pages :
- ☐ des revendications, n°s :
- ☐ des dessins, feuilles :

3. ☐ Le présent rapport a été formulé abstraction faite (de certaines) des modifications, qui ont été considérées comme allant au-delà de l'exposé de l'invention tel qu'il a été déposé, comme il est indiqué ci-après (règle 70.2(c)) :

4. Observations complémentaires, le cas échéant :

THIS PAGE BLANK (USPTO)

**RAPPORT D'EXAMEN
PRELIMINAIRE INTERNATIONAL**

Demande internationale n° PCT/FR98/01576

V. Déclaration motivée selon l'article 35(2) quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

1. Déclaration

Nouveauté	Oui : Revendications 2-14, 20 Non : Revendications 1, 15-19
Activité inventive	Oui : Revendications Non : Revendications 1-20
Possibilité d'application industrielle	Oui : Revendications 1-20 Non : Revendications

2. Citations et explications

voir feuille séparée

VII. Irrégularités dans la demande internationale

Les irrégularités suivantes, concernant la forme ou le contenu de la demande internationale, ont été constatées :

voir feuille séparée

THIS PAGE BLANK (USPTO)

1) La présente demande concerne une composition antitumorale comprenant au moins un vecteur recombinant comprenant des séquences codant pour un ou plusieurs polypeptide(s) immunogène(s) présentant naturellement une localisation non membranaire, ce ou ces polypeptides étant modifiés par insertion d'une séquence d'ancrage membranaire de manière à présenter une localisation membranaire dans les cellules dans lesquelles ils sont exprimés. La demande concerne également le vecteur en lui-même, une particule virale le comprenant et une composition antitumorale comprenant le ou les polypeptides modifiés. Enfin, la demande concerne l'utilisation de ladite composition pour la préparation d'un médicament destiné au traitement ou à la prévention d'un cancer du col de l'utérus, d'une dysplasie du col de bas grade ou d'une infection à papillomavirus.

2) Le document WO-A-94/21680 décrit des vecteurs comprenant des séquences codant pour un polypeptide immunogène fusionné avec une séquence signal de reticulum endoplasmique ("ER signal sequence") et leur utilisation dans des compositions pour le traitement des cancers et des infections virales (cf. page 4, ligne 8- page 5, ligne 15; page 9, ligne 24- page 12, ligne 7; page 16, ligne 4- page 19, ligne 4). Il est décrit que le polypeptide peut avoir une taille comprise entre environ 5 et environ 1000 acides aminés et peut, par exemple, dériver de la région précoce d'un virus (cf. page 7, lignes 16-30). Le signal ER intervient pour permettre l'ancrage des polypeptides chimères dans la membrane du reticulum endoplasmique (cf. page 6, ligne 31- page 7, ligne 15) afin de pouvoir ensuite être présentés à la surface des cellules par les molécules de classe I du MCH (cf. page 3, lignes 2-7). Cette divulgation correspond exactement à l'approche présentée dans le cadre de la présente invention par la demanderesse à la page 6, lignes 8 à 23.

Le document WO-A-94/21680 prive donc de nouveauté l'objet des revendications 1 et 15 à 19.

3) Comme l'indique la demanderesse à la page 7, lignes 6 à 28, le choix du signal de localisation est vaste et n'est pas limité à des signaux de localisation ciblant une membrane d'un compartiment cellulaire particulier. De même, le document WO-A-94/21680 décrit qu'il est possible remplacer la séquence ER par tout autre séquence signal connue. De plus, l'adaptation de la composition antitumorale décrite dans ce document à une utilisation destinée au traitement ou à la prévention d'une infection ou

THIS PAGE BLANK (USPTO)

tumeur à papillomavirus ne semble pas dépasser les compétences normales de l'homme du métier, étant donné que, comme le reconnaît la demanderesse aux pages 2 et 3, les gènes précoces et tardifs d'un certain nombre de papillomavirus avaient déjà été identifiés et clonés avant la date de priorité revendiquée. L'homme du métier n'aurait donc eu qu'à utiliser comme polypeptide d'adénovirus dans la composition dudit document un polypeptide de papillomavirus qu'il avait à disposition. Par conséquent, L'objet des revendications 3 à 10 et 20 n'implique donc pas d'activité inventive (Article 33(3) PCT).

4) L'objet de la revendication 2 représente un choix évident qui se serait présenté à l'homme du métier connaissant WO-A-94/21680 et les caractéristiques des revendications 11 à 14 sont purement conventionnelles. Ces revendications ne satisfont donc pas non plus au critère énoncé par l'article 33(3) PCT).

5) Les revendications 1 à 20 sont susceptibles d'application industrielle telle que définie par l'article 33(3) PCT.

6) Le présent rapport a été établi en présumant que toutes les revendications bénéficient de la date de priorité revendiquée. Ainsi, le document "WO-A-96/39178" n'a pas été considéré comme faisant partie de l'état de la technique tel que défini par le règlement d'exécution (Règle 64(1)-(3) PCT).

7) Contrairement à ce qu'exige la règle 5.1 a) ii) PCT, la description n'indique pas l'état de la technique antérieure pertinent exposé dans le document WO-A-94/21680 et ne cite pas ce document.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Revendications

1. Composition antitumorale comprenant au moins un vecteur recombinant renfermant les séquences codant pour un ou plusieurs polypeptide(s) immunogène(s), caractérisée en ce que l'un au moins desdits polypeptides est un polypeptide présentant naturellement une localisation non membranaire et qui est modifié par insertion d'une séquence d'ancrage membranaire de manière à présenter une localisation membranaire dans les cellules dans lesquelles il est exprimé.
2. Composition antitumorale selon la revendication 1, caractérisée en ce que ledit polypeptide présente naturellement une localisation nucléaire et est en outre déléte de sa séquence naturelle de localisation nucléaire.
3. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 et 2, caractérisée en ce que ladite séquence d'ancrage membranaire est sélectionnée parmi le groupe constitué par celle de la glycoprotéine rabique, de la glycoprotéine env du virus HIV et de la protéine F du virus de la rougeole.
4. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que ledit polypeptide immunogène est originaire d'une région précoce et/ou tardive d'un papillomavirus.
5. Composition antitumorale selon la revendication 4, caractérisée en ce que ledit polypeptide immunogène dérive d'un polypeptide de la région précoce d'un papillomavirus.
6. Composition antitumorale selon la revendication 5, caractérisée en ce que ledit polypeptide immunogène dérive d'un polypeptide E6 ou E7 d'un papillomavirus.
7. Composition antitumorale selon la revendication 6, caractérisée en ce que ledit polypeptide immunogène dérive d'un variant non oncogène dudit polypeptide E6 ou E7 d'un papillomavirus.
8. Composition antitumorale selon la revendication 4, caractérisée en ce que ledit polypeptide immunogène dérive du polypeptide L1 ou L2 d'un papillomavirus.
9. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 8, caractérisée en ce qu'au moins un polypeptide immunogène dérive d'un polypeptide précoce et au

THIS PAGE BLANK (USP10)

moins un polypeptide immunogène dérive d'un polypeptide tardif d'un papillomavirus.

10. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 9, caractérisée en ce qu'au moins un polypeptide immunogène est tel que :

5 (1) ledit polypeptide immunogène a une séquence homologue ou identique à celle montrée dans la SEQ ID NO: 1,

(2) ledit polypeptide immunogène a une séquence homologue ou identique à celle montrée dans la SEQ ID NO: 2,

10 (3) ledit polypeptide immunogène a une séquence homologue ou identique à celle montrée dans la SEQ ID NO: 1 et un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à celle montrée dans la SEQ ID NO: 2,

(4) ledit polypeptide immunogène a une séquence homologue ou identique à celle montrée dans la SEQ ID NO: 1, un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus,

15 (5) ledit polypeptide immunogène a une séquence homologue ou identique à celle montrée dans la SEQ ID NO: 2, un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus, ou

20 (6) ledit polypeptide immunogène a une séquence homologue ou identique à celle montrée dans la SEQ ID NO: 1, un polypeptide immunogène ayant une séquence homologue ou identique à celle montrée dans la SEQ ID NO: 2, un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L1 d'un papillomavirus et/ou un polypeptide immunogène dérivant de la protéine L2 d'un papillomavirus.

- 25 11. Composition antitumorale selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisée en ce que ledit vecteur recombinant comprend en outre les séquences codant pour au moins un composé améliorant l'effet antitumoral de ladite composition.

12. Composition antitumorale selon la revendication 11, caractérisée en ce que ledit composé améliorant l'effet antitumoral est un immunostimulateur.

- 30 13. Composition antitumorale selon la revendication 12, caractérisée en ce que ledit composé immunostimulateur est sélectionné parmi le groupe constitué par

THIS PAGE BLANK (USPTO)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

LISTE DE SEQUENCES

(1) INFORMATION GENERALE:

- (i) DEPOSANT:
 - (A) NOM: Transgene SA
 - (B) RUE: 11 rue de Molsheim
 - (C) VILLE: Strasbourg
 - (E) PAYS: France
 - (F) CODE POSTAL: 67082
 - (G) TELEPHONE: (33) 03 88 27 91 00
 - (H) TELECOPIE: (33) 03 88 27 91 11
- (ii) TITRE DE L' INVENTION: composition antitumorale a base de polypeptide immunogene de localisation cellulaire modifiee.
- (iii) NOMBRE DE SEQUENCES: 23
- (iv) FORME LISIBLE PAR ORDINATEUR:
 - (A) TYPE DE SUPPORT: Tape
 - (B) ORDINATEUR: IBM PC compatible
 - (C) SYSTEME D' EXPLOITATION: PC-DOS/MS-DOS
 - (D) LOGICIEL: PatentIn Release #1.0, Version #1.25 (OEB)

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 1:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 243 acides aminés
 - (B) TYPE: ~~acide aminé~~
 - (D) CONFIGURATION: linéaire
- (ii) TYPE DE MOLECULE: protéine
- (iii) HYPOTHETIQUE: NON
- (vi) ORIGINE:
 - (A) ORGANISME: Human papillomavirus
 - (B) SOUCHE: HPV-16
 - (C) INDIVIDUEL ISOLE: proteine E6 fusionnee signaux de la proteine F
- (vii) SOURCE IMMEDIATE:
 - (B) CLONE: E6*TMF

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 1:

```

Met Gly Leu Lys Val Asn Val Ser Ala Ile Phe Met Ala Val Leu Leu
1           5           10           15

Thr Leu Gln Thr Pro Thr Gly Gln Ile His Trp Gly Met His Gln Lys
20           25           30

Arg Thr Ala Met Phe Gln Asp Pro Gln Glu Arg Pro Arg Lys Leu Pro
35           40           45

Gln Leu Cys Thr Glu Leu Gln Thr Thr Ile His Asp Ile Ile Leu Glu
50           55           60

```

THIS PAGE BLANK (USPTO)

2

Cys Val Tyr Cys Lys Gln Gln Leu Leu Arg Arg Glu Val Tyr Asp Phe
 65 70 75 80
 Ala Phe Arg Asp Leu Cys Ile Val Tyr Arg Asp Gly Asn Pro Tyr Ala
 85 90 95
 Val Cys Asp Lys Cys Leu Lys Phe Tyr Ser Lys Ile Ser Glu Tyr Arg
 100 105 110
 His Tyr Cys Tyr Ser Leu Tyr Gly Thr Thr Leu Glu Gln Gln Tyr Asn
 115 120 125
 Lys Pro Leu Cys Asp Leu Leu Ile Arg Cys Ile Asn Cys Gln Lys Pro
 130 135 140
 Leu Gln Arg His Leu Asp Lys Lys Gln Arg Phe His Asn Ile Arg Gly
 145 150 155 160
 Arg Trp Thr Gly Arg Cys Met Ser Cys Cys Arg Ser Ser Arg Thr Arg
 165 170 175
 Arg Glu Thr Gln Leu Gly Leu Ser Ser Thr Ser Ile Val Tyr Ile Leu
 180 185 190
 Ile Ala Val Cys Leu Gly Gly Leu Ile Gly Ile Pro Ala Leu Ile Cys
 195 200 205
 Cys Cys Arg Gly Arg Cys Asn Lys Lys Gly Glu Gln Val Gly Met Ser
 210 215 220
 Arg Pro Gly Leu Lys Pro Asp Leu Thr Gly Thr Ser Lys Ser Tyr Val
 225 230 235 240
 Arg Ser Leu

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 2:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 185 acides aminés
- (B) TYPE: acide aminé
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: protéine

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(vi) ORIGINE:

- (A) ORGANISME: human Papillomavirus
- (B) SOUCHE: HPV-16
- (C) INDIVIDUEL ISOLE: E7 fusionne signaux de la glycoprotéine rabique

(vii) SOURCE IMMEDIATE:

- (B) CLONE: E7*TMR

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 2:

Met Val Pro Gln Ala Leu Leu Phe Val Pro Leu Leu Val Phe Pro Leu
 1 5 10 15
 Cys Phe Gly Lys Phe Pro Ile Gly Ser Met His Gly Asp Thr Pro Thr
 20 25 30

THIS PAGE BLANK (USPTO)

3

Leu His Glu Tyr Met Leu Asp Leu Gln Pro Glu Thr Thr Gln Leu Asn
 35 40 45
 Asp Ser Ser Glu Glu Glu Asp Glu Ile Asp Gly Pro Ala Gly Gln Ala
 50 55 60
 Glu Pro Asp Arg Ala His Tyr Asn Ile Val Thr Phe Cys Cys Lys Cys
 65 70 75 80
 Asp Ser Thr Leu Arg Leu Cys Val Gln Ser Thr His Val Asp Ile Arg
 85 90 95
 Thr Leu Glu Asp Leu Leu Met Gly Thr Leu Gly Ile Val Cys Pro Ile
 100 105 110
 Cys Ser Gln Lys Pro Arg Ser Tyr Val Leu Leu Ser Ala Gly Ala Leu
 115 120 125
 Thr Ala Leu Met Leu Ile Ile Phe Leu Met Thr Cys Cys Arg Arg Val
 130 135 140
 Asn Arg Ser Glu Pro Thr Gln His Asn Leu Arg Gly Thr Gly Arg Glu
 145 150 155 160
 Val Ser Val Thr Pro Gln Ser Gly Lys Ile Ile Ser Ser Trp Glu Ser
 165 170 175
 His Lys Ser Gly Gly Glu Thr Arg Leu
 180 185

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 3:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 36 paires de bases
- (B) TYPE: acide nucléique
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: OUI

(vi) ORIGINE:

- (A) ORGANISME: Human Papillomavirus
- (B) SOUCHE: HPV-16
- (C) INDIVIDUEL ISOLE: oligonucleotide de synthese oTG5118
(E7 delete 21 26)

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 3:

TCTGAGCTGT CATTAAATTG AGTTGTCTCT GGTTCG

36

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 4:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 42 paires de bases
- (B) TYPE: acide nucléique
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

THIS PAGE BLANK (USPTO)

4

- (ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)
- (iii) HYPOTHETIQUE: NON
- (iii) ANTI-SENS: NON
- (vi) ORIGINE:
 - (A) ORGANISME: Rabies virus
 - (C) INDIVIDUEL ISOLE: oligonucleotide de mutagenese oTG5745

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 4:

TGCACTCAGT AATACATAGG ATCCAATAGG GAATTTCCCA AA

42

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 5:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 38 paires de bases
 - (B) TYPE: acide nucléique
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire
- (ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)
- (iii) HYPOTHETIQUE: NON
- (iii) ANTI-SENS: OUI
- (vi) ORIGINE:
 - (C) INDIVIDUEL ISOLE: oligonucleotide de synthese oTG6390

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 5:

GTATCTCCAT GCATGGATCC TGCAGGGTTT CTCTACGT

38

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 6:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 36 paires de bases
 - (B) TYPE: acide nucléique
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire
- (ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)
- (iii) HYPOTHETIQUE: NON
- (iii) ANTI-SENS: OUI
- (vi) ORIGINE:
 - (C) INDIVIDUEL ISOLE: oligonucleotide de synthese oTG6880

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 6:

GGATCCGCCA TGGTAGATCT TGGTTTCTGA GAACAG

36

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 7:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 32 paires de bases

THIS PAGE BLANK (USPTO)

5

- (B) TYPE: acide nucléique
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: OUI

(vi) ORIGINE:

- (A) ORGANISME: Rabies virus
- (B) SOUCHE: HPV-16
- (C) INDIVIDUEL ISOLE: oligonucleotide de synthese oTG5377
(E6 delete 111 a 115)

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 7:

TGTCCAGATG TCTTTCAGT GGCTTTTGAC AG

32

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 8:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 34 paires de bases
- (B) TYPE: acide nucléique
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: NON

(vi) ORIGINE:

- (B) SOUCHE: oligonucleotide de synthese oTG10829

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 8:

GCGCGCTCTA GAATTATGGG TCTCAAGGTG AACG

34

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 9:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 35 paires de bases
- (B) TYPE: acide nucléique
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: OUI

(vi) ORIGINE:

- (B) SOUCHE: oligonucleotide de synthese oTG10830

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 9:

CAGTTCTCTT TTGGTGCATG CCCCAATGGA TTGA

35

THIS PAGE BLANK (USPTO)

6

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 10:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 38 paires de bases
 - (B) TYPE: acide nucléique
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: NON

(vi) ORIGINE:

(B) SOUCHE: oligonucleotide de synthese oTG10835

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 10:

ATGCTAGTGC TCGATAAACC CAGCTGGGTT TCTCTACG

38

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 11:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 35 paires de bases
 - (B) TYPE: acide nucléique
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: OUI

(vi) ORIGINE:

(B) SOUCHE: oligonucleotide de synthese oTG10836

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 11:

TCAAATCCAT TGGGGCATGC ACCAAAAGAG AACTG

35

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 12:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 38 paires de bases
 - (B) TYPE: acide nucléique
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: NON

(vi) ORIGINE:

(C) INDIVIDUEL ISOLE: oligonucleotide de synthese oTG10833

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 12:

CGTAGAGAAA CCCAGCTGGG TTTATCGAGC ACTAGCAT

38

THIS PAGE BLANK (USPTO)

7

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 13:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 36 paires de bases
 - (B) TYPE: acide nucléique
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire

- (ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

- (iii) HYPOTHETIQUE: NON

- (iii) ANTI-SENS: OUI

- (vi) ORIGINE:

- (C) INDIVIDUEL ISOLE: oligonucleotide de synthese oTG10834

- (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 13:

GCGGGCATGC GGTACCTCAG AGCGACCTTA CATAGG

36

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 14:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 32 paires de bases
 - (B) TYPE: acide nucléique
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire

- (ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

- (iii) HYPOTHETIQUE: NON

- (iii) ANTI-SENS: NON

- (vi) ORIGINE:

- (A) ORGANISME: Vaccinia virus

- (B) SOUCHE: Ankara modifie

- (C) INDIVIDUEL ISOLE: oligonucleotide de synthese oTG7637
(PCR zone III)

- (xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 14:

GGGGGGGAAT TCAGTAACT TGACTAAATC TT

32

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 15:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 39 paires de bases
 - (B) TYPE: acide nucléique
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire

- (ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

- (iii) HYPOTHETIQUE: NON

- (iii) ANTI-SENS: OUI

- (vi) ORIGINE:

- (A) ORGANISME: Vaccinia virus

THIS PAGE BLANK (USPTO)

8

- (B) SOUCHE: Ankara modifie
- (C) INDIVIDUEL ISOLE: oligonucleotide de synthese oTG7638
(PCR zone III)

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 15:

GGGGGGGGAT CCGAGCTCAC CAGCCACCGA AAGAGCAAT

39

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 16:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 32 paires de bases
 - (B) TYPE: acide nucléique
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire
- (ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)
- (iii) HYPOTHETIQUE: NON
- (iii) ANTI-SENS: NON
- (vi) ORIGINE:
 - (A) ORGANISME: Vaccinia virus
 - (B) SOUCHE: Ankara modifie
 - (C) INDIVIDUEL ISOLE: oligonucleotide de synthese oTG7635
(PCR zone III)

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 16:

GGGGGGGGAT CCGGAAAGTT TTATAGGTAG TT

32

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 17:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 30 paires de bases
 - (B) TYPE: acide nucléique
 - (C) NOMBRE DE BRINS: simple
 - (D) CONFIGURATION: linéaire
- (ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)
- (iii) HYPOTHETIQUE: NON
- (iii) ANTI-SENS: OUI
- (vi) ORIGINE:
 - (A) ORGANISME: Vaccinia virus
 - (B) SOUCHE: Ankara modifie
 - (C) INDIVIDUEL ISOLE: oligonucleotide de synthese oTG7636
(PCR zone III)

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 17:

GGGGGGGAAT TCTTTGTATT TACGTGAACG

30

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 18:

- (i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:
 - (A) LONGUEUR: 77 paires de bases
 - (B) TYPE: acide nucléique

THIS PAGE BLANK (USPTO)

9

- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: NON

(vi) ORIGINE:

- (B) SOUCHE: oligonucleotide de synthese oTG10502

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 18:

AGCTTTTAT TCTATACTTA AAAAATGAAA ATAACTCGA GTTGTCAAAG CATCATCTCA 60

ACACTGACTT GAGGTAC 77

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 19:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 69 paires de bases
- (B) TYPE: acide nucléique
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: OUI

(vi) ORIGINE:

- (B) SOUCHE: oligonucleotide de synthese oTG10503

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 19:

CTCAAGTCAG TGTGAGATG ATGCTTTGAC AACTCGAGTT TATTTTCATT TTTTAAGTAT 60

AGAATAAAAA 69

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 20:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 39 paires de bases
- (B) TYPE: acide nucléique
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: OUI

(vi) ORIGINE:

- (C) INDIVIDUEL ISOLE: oligonucleotide de synthese oTG5925

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 20:

TCAGATCTGT CGAGGGATCT GCAGCTTCTT CTAGAGGTA 39

THIS PAGE BLANK (USPTO)

10

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 21:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 44 paires de bases
- (B) TYPE: acide nucléique
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: NON

(vi) ORIGINE:

- (C) INDIVIDUEL ISOLE: oligonucleotide de synthese oTG5924

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 21:

AGTGAATTGC TGCAGGTACC CGGATCCGCA TCGACTATCG ACAT

44

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 22:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 35 paires de bases
- (B) TYPE: acide nucléique
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: NON

(vi) ORIGINE:

- (A) ORGANISME: Homo sapiens
- (B) SOUCHE: lignee cellulaire Daudi
- (C) INDIVIDUEL ISOLE: amorce PCR oTG6353 (clonage B7.1)

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 22:

TCAGCCCCCTG AATTCTGCGG AACTGTAT ACAG

35

(2) INFORMATION POUR LA SEQ ID NO: 23:

(i) CARACTERISTIQUES DE LA SEQUENCE:

- (A) LONGUEUR: 33 paires de bases
- (B) TYPE: acide nucléique
- (C) NOMBRE DE BRINS: simple
- (D) CONFIGURATION: linéaire

(ii) TYPE DE MOLECULE: ADN (génomique)

(iii) HYPOTHETIQUE: NON

(iii) ANTI-SENS: OUI

(vi) ORIGINE:

- (A) ORGANISME: Homo sapiens
- (B) SOUCHE: lignee cellulaire Daudi
- (C) INDIVIDUEL ISOLE: amorce PCR oTG6352 (clonage B7.1)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(xi) DESCRIPTION DE LA SEQUENCE: SEQ ID NO: 23:

TTGACCCTAA AGATCTGAAG CCATGGGCCA CAC

33

THIS PAGE BLANK (U)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/FR 98/01576

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 6 C07K14/025 C12N15/86 A61K39/12

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C07K C12N A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 94 21680 A (US HEALTH) 29 September 1994 claims ---	1,2
Y	WO 93 00436 A (CANCER RES CAMPAIGN TECH) 7 January 1993 claims ---	1-39
Y	BOURNELL M. ET AL.,: "Construction and characterisation of a recombinant vaccinia virus expressing human papillomavirus proteins for immunotherapy of cervical cancer" VACCINE, vol. 14, no. 16, - 1996 pages 1485-1494, XP002061738 see the whole document ---	1-39
	-/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 November 1998

Date of mailing of the international search report

25/11/1998

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Müller, F

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern al Application No
PCT/FR 98/01576

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	MENEGUZZI G ET AL: "VACCINATION AGAINST PAPILLOMAVIRUS-INDUCED TUMORS USING VACCINIA RECOMBINANTS EXPRESSING NON-STRUCTURAL PROTEINS" JOURNAL OF CELLULAR BIOCHEMISTRY, no. SUP. 13, PART C, 1 January 1989, page 210 XP000121130 see the whole document ---	1-39
A	WO 87 06260 A (TRANSGENE SA ; PASTEUR INSTITUT (FR)) 22 October 1987 see the whole document ---	1-39
A	WO 87 07642 A (TRANSGENE SA ; PASTEUR INSTITUT (FR)) 17 December 1987 see the whole document ---	1-39
A	WO 90 10459 A (TRANSGENE SA) 20 September 1990 see the whole document ---	1-39
A	JARRETT W F H ET AL: "STUDIES ON VACCINATION AGAINST PAPILLOMAVIRUSES: PROPHYLACTIC AND THERAPEUTIC VACCINATION WITH RECOMBINANT STRUCTURAL PROTEINS" NUCLEIC ACIDS RESEARCH, vol. 184, 1991, pages 33-42, XP002023588 see the whole document ---	1-39
P, X	WO 97 27216 A (UNIV GEORGETOWN ; DAVIDSON EUGENE A (US); YANG SHUTONG (US)) 31 July 1997 see the whole document ---	1-3,5, 20,21, 29,30
A	WO 96 39178 A (WISTAR INST ; UNIV PENNSYLVANIA (US); ERTL HILDEGUND C J (US); WILS) 12 December 1996 claims , seq id 2 ---	11-16, 27,34-36
A	SEEDORF K ET AL: "HUMAN PAPILLONMAVIRUS TYPE 16 DNA SEQUENCE" VIROLOGY, vol. 145, no. 1, August 1985, pages 181-185, XP002059799 see the whole document -----	11-16, 27,34-36

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No

PCT/FR 98/01576

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9421680 A	29-09-1994	AU 692152 B	04-06-1998
		AU 6410794 A	11-10-1994
		CA 2158455 A	29-09-1994
		EP 0689551 A	03-01-1996
		JP 8508252 T	03-09-1996
		US 5733548 A	31-03-1998
WO 9300436 A	07-01-1993	AU 662910 B	21-09-1995
		AU 1985992 A	25-01-1993
		EP 0592480 A	20-04-1994
		JP 6508988 T	13-10-1994
WO 8706260 A	22-10-1987	FR 2596771 A	09-10-1987
		FR 2606029 A	06-05-1988
		AU 604696 B	03-01-1991
		AU 7234987 A	09-11-1987
		DE 3789400 D	28-04-1994
		DE 3789400 T	01-09-1994
		DK 641787 A	07-12-1987
		EP 0245136 A	11-11-1987
		ES 2052589 T	16-07-1994
		JP 10059868 A	03-03-1998
		JP 2743164 B	22-04-1998
		JP 8224090 A	03-09-1996
		JP 1500161 T	26-01-1989
		JP 2719917 B	25-02-1998
		KR 9601819 B	05-02-1996
		PT 84640 B	30-11-1989
		US 5672689 A	30-09-1997
		US 5795577 A	18-08-1998
		US 5169763 A	08-12-1992
WO 8707642 A	17-12-1987	FR 2600079 A	18-12-1987
		AU 614934 B	19-09-1991
		AU 7514087 A	11-01-1988
		DE 3789525 D	11-05-1994
		DE 3789525 T	25-08-1994
		DK 76688 A	15-02-1988
		EP 0253693 A	20-01-1988
		ES 2062990 T	01-01-1995

THIS PAGE BLANK (U.S.)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Intern: 31 Application No

PCT/FR 98/01576

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 8707642 A		JP 1500962 T PT 85093 B	06-04-1989 30-03-1990
WO 9010459 A	20-09-1990	FR 2643817 A CA 2050304 A DE 69002325 T DK 462187 T EP 0462187 A ES 2058898 T JP 5503282 T US 5744133 A	07-09-1990 07-09-1990 02-12-1993 18-10-1993 27-12-1991 01-11-1994 03-06-1993 28-04-1998
WO 9727216 A	31-07-1997	AU 2248997 A	20-08-1997
WO 9639178 A	12-12-1996	US 5698202 A AU 6261696 A	16-12-1997 24-12-1996

THIS PAGE BLANK (USPTO)

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

NOTIFICATION D'ELECTION

(règle 61.2 du PCT)

Expéditeur: le BUREAU INTERNATIONAL

Destinataire:

United States Patent and Trademark
Office
(Box PCT)
Crystal Plaza 2
Washington, DC 20231
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

en sa qualité d'office élu

Date d'expédition (jour/mois/année) 06 avril 1999 (06.04.99)	
Demande internationale no PCT/FR98/01576	Référence du dossier du déposant ou du mandataire 339219/17059
Date du dépôt international (jour/mois/année) 17 juillet 1998 (17.07.98)	Date de priorité (jour/mois/année) 18 juillet 1997 (18.07.97)
Déposant KIENY, Marie-Paule etc	

1. L'office désigné est avisé de son élection qui a été faite:

☒ dans la demande d'examen préliminaire international présentée à l'administration chargée de l'examen préliminaire international le:

15 février 1999 (15.02.99)

☐ dans une déclaration visant une élection ultérieure déposée auprès du Bureau international le:

2. L'élection ☒ a été faite

☐ n'a pas été faite

avant l'expiration d'un délai de 19 mois à compter de la date de priorité ou, lorsque la règle 32 s'applique, dans le délai visé à la règle 32.2b).

Bureau international de l'OMPI
34, chemin des Colombettes
1211 Genève 20, Suisse

no de télécopieur: (41-22) 740.14.35

Fonctionnaire autorisé

Diana Nissen

no de téléphone: (41-22) 338.83.38

THIS PAGE BLANK (USPTO)

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

PCT

Expéditeur : le BUREAU INTERNATIONAL

NOTIFICATION RELATIVE A LA PRESENTATION OU A LA TRANSMISSION DU DOCUMENT DE PRIORITE

(instruction administrative 411 du PCT)

Destinataire:

MARTIN, Jean-Jacques
Cabinet Regimbeau
26, avenue Kléber
F-75116 Paris
FRANCE

ARRIVE LE
15.00T.1998
CABINET
REGIMBEAU

Date d'expédition (jour/mois/année) 08 octobre 1998 (08.10.98)	NOTIFICATION IMPORTANTE
Référence du dossier du déposant ou du mandataire 339219/17059	
Demande internationale no PCT/FR98/01576	
Date de publication internationale (jour/mois/année) Pas encore publiée	
Déposant TRANSGENE S.A. etc	Date du dépôt international (jour/mois/année) 17 juillet 1998 (17.07.98) Date de priorité (jour/mois/année) 18 juillet 1997 (18.07.97)

- La date de réception (sauf lorsque les lettres "NR" figurent dans la colonne de droite) par le Bureau international du ou des documents de priorité correspondant à la ou aux demandes énumérées ci-après est notifiée au déposant. Sauf indication contraire consistant en un astérisque figurant à côté d'une date de réception, où les lettres "NR", dans la colonne de droite, le document de priorité en question a été présenté ou transmis au Bureau international d'une manière conforme à la règle 17.1.a) ou b).
- Ce formulaire met à jour et remplace toute notification relative à la présentation ou à la transmission du document de priorité qui a été envoyée précédemment.
- Un astérisque(*) figurant à côté d'une date de réception dans la colonne de droite signale un document de priorité présenté ou transmis au Bureau international mais de manière non conforme à la règle 17.1.a) ou b). Dans ce cas, l'attention du déposant est appelée sur la règle 17.1.c) qui stipule qu'aucun office désigné ne peut décider de ne pas tenir compte de la revendication de priorité avant d'avoir donné au déposant la possibilité de remettre le document de priorité dans un délai raisonnable en l'espèce.
- Les lettres "NR" figurant dans la colonne de droite signalent un document de priorité que le Bureau international n'a pas reçu ou que le déposant n'a pas demandé à l'office récepteur de préparer et de transmettre au Bureau international, conformément à la règle 17.1.a) ou b), respectivement. Dans ce cas, l'attention du déposant est appelée sur la règle 17.1.c) qui stipule qu'aucun office désigné ne peut décider de ne pas tenir compte de la revendication de priorité avant d'avoir donné au déposant la possibilité de remettre le document de priorité dans un délai raisonnable en l'espèce.

<u>Date de priorité</u>	<u>Demande de priorité n°</u>	<u>Pays, office régional ou office récepteur selon le PCT</u>	<u>Date de réception du document de priorité</u>
18 juil 1997 (18.07.97)	97/09152 ✓	FR ✓	05 octo 1998 (05.10.98) -

Bureau international de l'OMPI 34, chemin des Colombettes 1211 Genève 20, Suisse no de télécopieur (41-22) 740.14.35	Fonctionnaire autorisé: R. Raissi no de téléphone (41-22) 338.83.38
---	---

THIS PAGE BLANK (USPTO)